MYCOLOGICAL INSTITUTE
LIBRARY
4 FEB 1992
FRIEDERICHS, K.
1923
IMPERIAL BUREAU OF MYCOLOGY
27 JUL. 1923

MEDEDEELINGEN

VAN HET

KOFFIEBESSENBOEBOEK-FONDS.

No. 6.

Over de parasitische schimmels, die den Koffiebessen-boeboek dooden.

DOOR

Dr. K. FRIEDERICHS en Dr. W. BALLY

(With an Summary in English)

Typ. E. Fuhri & Co. Soerabaia.

MEDEDEELINGEN
VAN HET
KOFFIEBESSENBOEBOEK-FONDS.
No. 6. JANUARI 1923.

OVER DE PARASITISCHE SCHIMMELS, DIE DEN KOFFIE-BESSENBOEBOEK DOODEN.

door

Dr. K. Friederichs, Entomoloog van het Koffiebessenboeboek-Fonds

en

Dr. W. Bally, Botanicus aan het Proefstation Malang.

(met 5 platen en 2 figuren in den tekst.)

Leefmans is de eerste onderzoeker geweest, die de aandacht op een schimmel gevestigd heeft, welke de bessenboeboek [1]) aantast. Hij heeft in een lezing daaromtrent het volgende medegedeeld:

„Men vindt dikwijls een kever gedeeltelijk in de bes geboord en daar door een schimmel overwoekerd. Dr. Roepke vermeldt, dat deze schimmel secundair zou zijn. Zorgvuldige proeven, in samenwerking met Dr. Paravicini genomen, hebben evenwel uitgemaakt, dat deze schimmel wel degelijk parasitair is. Hij is nieuw en zal door de mycologen van het Instituut voor Plantenziekten beschreven worden. Soms vindt men een beschimmelden kever tot op 25 % der aangetaste bessen. Toch is m. i. van dezen fungus niet veel te verwachten, hij is reeds algemeen op Java verspreid en doet goed werk, toch is het zeer twijfelachtig, of wij zijn uitwerking verhoogen kunnen".

Ook Arens, indertijd botanicus aan het proefstation Malang, was de schimmel wel bekend en hij was al begonnen, cultures er van te maken, welke wij terug gevonden hebben. Van deze oude cultures, die geheel verdroogd waren, — als datum is op het glas 12 Augustus 1919 vermeld — hebben wij sporen op verschen voedingsbodem overgeënt die in één geval op 10 Januari 1922 kiemden en tot een kolonie aangroeiden. De sporen kunnen dus tot $2^1/_2$ jaar lang kiemkrachtig blijven.

Dat H. W. van der Weele dezelfde schimmel al gezien heeft, komt ons niet zeer waarschijnlijk voor. Hij schrijft: „Wat de plant-

[1]) Stephanoderes hampeï Ferr. = coffeae Haged. welke laatste naam door enkele auteurs geprefereerd wordt.

aardige vijanden betreft, meende ik aanvankelijk, dat een witgrauwe schimmel van belang was. Op schaduwrijke plekken vond ik in de vruchten verscheidene doode kevers, die slechts halverwege in het vruchtvleesch waren gedrongen en door een schimmelplantje bedekt waren. Ik vermoedde, dat dit de verdelger was, maar in dezelfde vrucht bevonden zich veelal gezonde kevers, die niets geleden hadden en bij determinatie der schimmel, waarvoor ik Dr. C. BERNARD nog mijnen hartelijken dank betuig, bleek, dat wij hier met den bekenden, saprophytischen *Aspergillus* te doen hadden, welke zeer waarschijnlijk den dood der kevers niet veroorzaakt heeft".

Deze beschrijving komt in de belangrijkste punten niet overeen met den later door LEEFMANS, ARENS en ons geobserveerden fungus, die nooit witgrauw is en die zeker door Dr. BERNARD niet als een *Aspergillus* zou gedetermineerd zijn. Dit vast te stellen lijkt mij historisch van belang, omdat wij veelvuldig hooren beweren, dat bij het begin van het optreden van den boeboek een parasitische schimmel al aanwezig was. Bewijzen voor deze bewering ontbreken en anderzijds zijn ons vele ondernemingen bekend, waar de boeboekepidemie al vrij zwaar was, zonder dat er iets van de schimmel kon waargenomen worden. Pas nadat de boeboek eenigen tijd zijn vernielend werk had doorgezet, begon de schimmelepidemie haar intrede te doen. Daarbij was meestal een immigratie der schimmel van uit aangrenzende ondernemingen waar te nemen.

Sedert dien werd de boeboekschimmel op vele plaatsen geobserveerd. Er zijn ondernemingen, waar zij in zeer hevige mate kan optreden, andere bleven gedurende langen tijd vrij van schimmel. Welke natuurlijke omstandigheden een eenmaal begonnen epidemie kunnen bevorderen, is in Mededeeling No. 1 uiteengezet.

Later vond FRIEDERICHS, zwarte bessen doorzoekende, een andere, eveneens parasitische schimmel, die zeldzamer voorkomt.

De omstandigheden in aanmerking nemende, scheen het ons wenschelijk naar middelen te zoeken, om dezen natuurlijken vijand te helpen verspreiden en om hetgeen de natuur hier en daar begonnen heeft, kunstmatig te bevorderen.

Daartoe was het noodig, deze schimmels in het groot te kweeken en met de verkregen cultures infectieproeven in het laboratorium en in aanplantingen te nemen. Als doel van onze proeven stond ons voor oogen:

1. de schimmel naar ondernemingen te brengen, waar zij tot nu toe nog niet gevonden werd;

2. waar de schimmel een zeker percentage van de kevers door natuurlijke infectie doodt, dit percentage te verhoogen;

3. haar in ongunstige tijden, wanneer een achteruitgang waargenomen wordt, weder in de aanplantingen in te voeren.

Zouden wij met dit werk een succes kunnen bereiken, dan zou het misschien zaak zijn, de schimmel op de een of andere manier in het groot te doen verspreiden.

Alvorens over de in deze richting genomen proeven verslag te geven, moeten wij de systematische positie van de schimmels nader bespreken. Met het determinatiewerk kon echter pas begonnen worden, nadat wij over voldoende cultures beschikten. Toen was het pas mogelijk, om de schimmel in al haar levensstadia in cultures en op kunstmatig geïnfecteerde insecten te bestudeeren. Dezen gang van zaken zullen wij ook hier volgen. De inhoud dezer publicatie bevat dus de volgende hoofdstukken:

1. De cultures .... blz. 105
2. De systematische positie van de twee schimmels blz. 106
3. Het optreden van de schimmel in de natuur.... blz. 112
4. De uitwerking van de schimmel op de vermeerdering van den boeboek .... blz. 114
5. Infectieproeven .... blz. 123
Samenvatting .... blz. 141

Hoofdstuk 2 is voor biologen berekend, die zich met insectenschimmels bezig houden. De hoofdstukken 1 en 2 zijn van W. Bally, 3 en 4 van K. Friederichs, 5 en 6 werden gemeenschappelijk geschreven.

1. De Cultures.

Wij kunnen hieromtrent heel kort zijn. Over het maken van reincultures van schimmels bestaat immers en uitgebreide literatuur. Mocht de een of andere planter er iets voor voelen, om zelf met den aanleg van schimmelcultures te beginnen, dan kunnen wij altijd de noodige gegevens verstrekken of zelf demonstreeren, hoe gewerkt moet worden.

Daar de twee schimmels in de natuur meestal zonder bijgemengde andere schimmels groeien, kunnen wij met een gesteriliseerde naald, direct van de witte proppen, materiaal op onze voedingsbodems enten en kunnen zonder groote moeite, mits de bekende voorzorgsmaatregelen in acht genomen worden, onmiddellijk reincultures verkrijgen. Als voedingsbodems werden rijst, aardappelen, cassave, bananen-agar met goed succes gebruikt. Gemakshalve zijn wij meestal er toe overgegaan, aardappelen te gebruiken.

Ook vloeibare voedingsbodems, als b. v. een oplossing van 1% Pepton, 1% Glucose in water, voldoen goed.

Na overenting zien wij al na een dag een klein wit myceliumplekje optreden, dat zich heel gauw uitbreidt. Na een dag of vier kunnen wij al de eerste kleurveranderingen constateeren, die hoe langer hoe intensiever worden. Ten slotte zijn de cultures van de eene soort, *Botrytis*, geelachtig, die van de andere soort, *Spicaria*, paars gekleurd. Dit is een teeken van rijke sporenvorming; cultures, die deze kleurveranderingen in sterke mate laten zien, zijn voor overenting geschikt.

2. De systematische positie van de twee schimmels.

1. *Botrytis stephanoderis* Bally.

Diagnose. Mycelium wit, binnen het lichaam van de aangetaste insecten, duidelijk meercellig, draden daar tot 4 μ dik, buiten veel dunner (tot 2 μ).

De conidiëndragers vormen kransvormig geplaatste vertakkingen, die onder zekere omstandigheden kunnen aanzwellen. Hierop ontstaan terminaal en lateraal op kleine sterigmen de conidiën. Conidiën rond, doorsnede 2—3 μ. De laterale vertakkingen kunnen secundaire, tertiaire, enz. takken vormen. Zoo ontstaan ten slotte zeer groote hoopjes van sporen (in een hoopje tot 1000 conidiën).

In aardappelreincultures worden 1 tot 2 cM. hooge coremiën gevormd, die eenvoudig of vertakt kunnen zijn.

Voorkomend op Stephanoderes hampeï als parasiet op Java en Sumatra.

Deze schimmel gelijkt in vele opzichten op een in Europa welbekende, schadelijke schimmel, *Botrytis Bassiana Bals.*, muscardine genoemd, die indertijd onder de zijderupsen zeer ernstige schade aangericht heeft. Er zijn daaromtrent in de eerste helft van de vorige eeuw vele publicaties verschenen, die hier niet tot onze beschikking stonden. Daarentegen konden wij vele belangrijke gegevens vinden in een stuk van de Bary: „Zur Kenntnis insektentötender Pilze". Daar vinden wij een uitvoerige beschrijving van *Botrytis Bassiana*. Aangezien onze schimmel in zoo menig opzicht met *Botrytis Bassiana* overeenkomt, zullen wij hier de klassieke beschrijving, die de Bary er van gegeven heeft, vertalen en dan die punten van verschil releveeren, welke ons er toe gebracht hebben van *Botrytis stephanoderis* een afzonderlijke soort te maken. Hier volgt de beschrijving van de Bary:

„De conidiën ontstaan op de los viltachtige, rijkvertakte, kleurlooze en gesepteerde hyphen in dichte, ronde hoopjes, die in onregelmatige afstanden van elkaar zijdelings aan de hyphen ontspringen of deze kransvormig omgeven.

De vorming van een hoopje begint hiermede, dat een geledingscel van de draad op een willekeurig punt een of twee tot meerdere, elkander ongeveer tegenover gestelde takjes

vormt, die ik de primaire basaalcellen van een hoopje zal noemen. Ze worden rond of ovaal, worden ongeveer dubbel zoo breed als de hen dragende draden en vormen op de wijze der gistceldeelingen, zoowel terminale als ook laterale takken: basaalcellen van een tweede generatie, op de primaire in grootte en gedaante gelijkende. Dezelfde deeling kan zich gedurende meerdere generaties herhalen, zelfs in schrale hoopen heb ik 6 van de laatste geteld, in krachtige exemplaren is hun getal grooter, maar nauwelijks met zekerheid te bepalen. Het uiteinde van de basaalcellen van de laatste generatie loopt uit in een smal priemvormig uitsteeksel, op welks uiteinde een sporenkopje gevormd wordt, op een wijze, welke ik succedane kopjesgewijze afsnoering noemde. Het aantal sporen of conidiën, die successievelijk in een kopje gevormd worden, kon ik tot 16 bepalen, doch het kan misschien nog hooger opklimmen. Bij de betreffende schimmel groeide de verlenging van het sterigma, welke een nieuwe conidie vormen moet en die de voorafgaande conidie ter zijde streeft, niet onmiddellijk op de plaats van afsnoering van de laatste uit, maar ietwat daaronder op een afstand van ongeveer een halve conidiënlengte. Elke conidie zit daarom op haar afzonderlijk klein steeltje. Zoolas bij andere hoofdjes, die op dezelfde manier ontstaan, is het sterigma zigzagvormig van één conidie naar de andere gebogen. Tusschen twee opeenvolgende conidiën is het sterigma dikwijls aanmerkelijk in de lengte gestrekt; grootere hoofdjes hebben daardoor een sterk verlengde, met een aar te vergelijken gedaante.

De wijze van hoofdjesvorming kan op alle jongere exemplaren goed nagegaan worden. Om zich over de geheele hoop te oriënteeren, onderzoekt men het best tengere, van een primaire basaalcel uitgaande exemplaren. Men kan zulke kweeken, indien men van jeugdige, conidiëndragende hyphenmassa's een vlokje neemt en op het voorwerpglas in vochtige lucht laat groeien. In grootere, krachtige hoopjes is het aantal basaalcellen van verschillende generaties vrij aanzienlijk. Zij zijn van alle kanten op en door elkaar gegroeid, ten laatste onder sterigmen en sporenhoofdjes verborgen; men krijgt daarom alleen met veel moeite een goed overzicht over hun samenstelling, maar men kan zich toch gemakkelijk er van overtuigen, dat hun samenstelling met die van tengere exemplaren goed overeenkomt.

Afwijkingen zonder groote beteekenis komen in zooverre voor, dat hier en daar ook de basaalcellen van de voorlaatste generatie sterigmen vormen en dat vaak in plaats van één, twee sterigmen aan een basaalcel ontspringen. Bij magere exemplaren, zooals ze bij de cultuur op een objectdrager talrijk voorkomen, groeien de primaire basaalcellen direct uit in een sporenvormend sterigma zonder secundaire basaalcellen te vormen. Het einde van de hoofdjesdragende hyphen neemt ook de eigenschappen van een eenvoudig sterigma aan en vormt een zeer rijk van sporen voorzien, langwerpig hoofdje.

De tot nu toe genoemde conidiën scheiden zich na hun vorming van de dragers af als kogelronde, kleurlooze, met een eenvoudig dun membraan voorziene celletjes van 1/400 tot 1/360 mm. (= 2,5 — 2,8 μ) doorsnede. Ze zijn van af het oogenblik hunner rijpheid kiemkrachtig en blijven, mits droog bewaard, in elk geval gedurende 10 maanden hun kiemkracht behouden. Wanneer deze ophoudt, is nog niet onderzocht.

Uitgezaaid op een dun waterlaagje op een objectdrager, vormen zij gemiddeld binnen 24 uur een kiembuis, welke in het begin dikwijls horizontaal en gekromd, langzaam in de lengte groeit, spoedig haar uiteinde opricht en boven het waterniveau verheft. Zoodra zij in doorsnede de 6- tot 10-voudige lengte van een conidiëndoorsnede heeft bereikt, spitst zich haar einde toe en snoert een enkele conidie of een uit weinige conidiën bestaand hoofdje af. Deze conidiën verschillen van de boven beschreven conidiën: Ten eerste ontbreken afzonderlijke steeltjes, zij zitten los op de punt van het sterigma en laten zeer gemakkelijk los. Ten tweede hebben zij niet een kogelvormige, maar een langwerpig cylindrische gedaante, zij zijn 3 tot 4 maal zoo lang als breed, hun breedte is gelijk de doorsnede van de kogelvormige conidiën of iets kleiner. Ik zal de tweede soort conidiën in het vervolg volgens hun gedaante cylinderconidiën noemen.

De vorming van cylinderconidiën heeft op de zooeven beschreven manier ook aan het uiteinde van zulke kiembuizen plaats, die over hun geheele lengte onder water gedompeld zijn. Als men de conidiën in suikeroplossing of in verdunde gelatine uitzaait, dan ontkiemen zij, zooals VITTADINI aangetoond heeft, gemakkelijk; de kiembuizen vertakken zich binnen de vloeistof en er worden cylinderconidiën gevormd, zoowel op het uiteinde als ook op korte sterigmen, welke op zij van de takken ontstaan.

De meeste, in water gevormde, recht opstaande kiembuizen groeien, aan de spits in de lengte, nadat zij alleen maar een klein aantal cylinderconidiën gevormd hebben, terwijl zij de laatste van deze op zij schuiven, om op de boven beschreven manier hoofdjes van ronde conidiën te vormen, hetzij na een geringe strekking, aan het einde van den hoofdtak, hetzij na min of meer rijkelijke vertakking aan korte, op de boven beschreven primaire basaalcellen gelijkende zijtakjes of aan hoofdtakeinden. Sterk ontwikkelde

exemplaren gelijken in ieder opzicht op de draden, die van rupsen afkomstig op objectdragers gecultiveerd worden. Tusschen deze en de kleinste, schamele exemplaren komen alle mogelijke tusschenvormen voor.

Van de in suikeroplossing of in gelatine gekweekte kiemplantjes laten min of meer in de lucht rijzende takken dezelfde ontwikkeling zien, als zoo juist beschreven werd. Behalve de wederom conidiën vormende kiembuizen worden van vele conidiën nog dergelijke kiembuizen gevormd, welke, zonder sporenvorming in de vloeistof verder groeien en zich dikwijls na een kort verloop naast andere of naast ongekiemde conidiën leggen, om met deze tot een doorloopende buis te versmelten, zoolals dat bij schimmelkiemingen dikwijls wordt waargenomen".

DE BARY heeft met deze schimmel op verschillende rupsen infectieproeven genomen, speciaal op *Sphinx euphorbiae* en heeft de ontkieming der sporen op de huid, het binnendringen van de hyphen en de ontwikkeling van het mycelium binnen het lichaam der rupsen geobserveerd. Hij heeft kunnen aantoonen, dat in het bloed van dieren, bij welke de infectie geslaagd was, cylinderconidiën kunnen gevonden worden en heeft vastgesteld, dat ook in de bloedvaten verder voortdurend cylinderconidiën worden gevormd.

DE BARY heeft verder uitvoerig de veranderingen beschreven, welke de rupsen na de infectie ondergaan en heeft door kweekproeven kunnen aantoonen, dat een directe samenhang bestaat tusschen het cylinderconidiënmycelium binnen het insectenlichaam en de daar buiten groeiende draden met kogelconidiën. Isaria-achtige coremiën traden in de proeven van DE BARY alleen op doode rupsen van *Gastropacha quercus* op.

Onze schimmel komt in de allermeeste punten met *Botrytis Bassiana* overeen. Er zijn maar enkele kenmerken, die rechtvaardigen aan den boeboekschimmel een nieuwen naam te geven. Had ik ook maar alleen de beschrijvingen gekend, dan had ik zonder te aarzelen de boeboekschimmel *Botrytis Bassiana* genoemd. Maar ik kon, dank zij de welwillende hulp van het *Centraalbureau voor schimmelcultures te Baarn*, de twee schimmels in cultures op dezelfde voedingsbodems met elkaar vergelijken. Zoodoende vond ik toch belangrijke verschillen, die weliswaar meer kwantitatief als kwalitatief zijn, d. w. z. *Botrytis Stephanoderis* wijkt van *Botrytis Bassiana* hoofdzakelijk af door haar weelderigere ontwikkeling.

De vorming der conidiën gebeurt op dezelfde manier, als door DE BARY beschreven. Onze teekeningen laten de geleidelijke vorming der conidiënhoopen zien. Een lange beschrijving is overbodig en ik kan verwijzen naar hetgeen DE BARY geschreven heeft. Onze figuren 1 en 2 laten jonge conidiëndragers zien; figuren 3 tot 6 maken de wijze duidelijk, waarop de conidiën ontstaan. In fig. 7 zien wij sporen; in fig. 8 sporen, die na een dag op een voorwerpglas in aardappelsap gelegen te hebben, ontkiemd zijn. Het is te zien, dat een deel er van met twee kiembuizen in plaats van met een ontkiemt.

Om een vergelijking te kunnen trekken, voeg ik hierbij een teekening van een conidiëndrager van *Botrytis Bassiana* uit een cultuur afkomstig. (fig. 9).

Als bijzonder karakteristiek heb ik in de diagnose de vorming van hoofdjes genoemd, die buitengewoon veel sporen bevatten. In figuur 10 is een stuk van een ouderen conidiëndrager afgebeeld; wij zien daar de weelderige hoofdjes. Ik kon in een hoofdje tot 1000 sporen tellen, maar er zijn er zeker, die nog veel meer sporen bevatten. In dit opzicht wijkt dus *Botrytis stephanoderis* van *Botrytis Bassiania* af. Op onze teekening van *Botrytis Bassiana* zijn in overeenkomst met de beschrijving en de teekeningen van DE BARY sterigmen te zien, waarvan de sporen al afgevallen zijn. Dergelijke litteekens vielen mij bij *Botrytis stephanoderis* nooit op. Als wij van een oude cultuur sporenmeel afschudden en onderzoeken, dan vallen dadelijk vrij groote hoopjes op, die bij microscopisch onderzoek elk uit een sporenhoopje blijken te bestaan.

In ietwat oudere cultures (na 8 à 10 dagen), als een rijke sporenvorming plaats had, verandert de kleur van wit in lichtgeel. (Kleurenatlas van KLINKSIEK No. 153 C, later 153 D). Ook deze kleur verandering, die in nauwen samenhang staat met de rijke sporenvorming kon ik in oudere cultures van *Botrytis Bassiana* nooit zien.

In cultures, die ongeveer vier weken oud zijn, begint, nadat de geheele oppervlakte met conidiën bedekt is, de vorming van coremiën. Deze vertoonen menigvuldige vormen, zij zijn enkelvoudig of min of meer vertakt en dragen op hun top een bouquet van witte myceeldraden, die zich waaierachtig uitspreiden. De photo geeft een oude cultuur met talrijke coremiën van verschillenden vorm weder. (plaat V). De coremiën gelijken op die van *Botrytis Bassiana*, welke DE BARY op de rups van *Gastropacha quercus* vond.

De cylinderconidiën, waarover DE BARY zoo uitvoerig schrijft, heb ik gezocht, maar niet dikwijls gevonden. Om de ontwikkeling van het mycelium binnen het lichaam van den kever te bestudeeren, heb ik materiaal afkomstig van mijn infectieproeven gebruikt. De kevers sterven meestal drie of vier dagen na de infectie. Wij wachten dan nog één dag of twee. De doode kevers worden dan in het midden doorgesneden, het lichaamsvocht op een voorwerpglas gebracht en microscopisch onderzocht. Wij vinden daar geheel anders uitziende schimmeldraden, die uit aangezwollen cellen bestaan, welke gemakkelijk uit elkaar vallen. (fig. 11). De vorming van cylinderconidiën heeft hier en daar plaats. Wij kunnen deze beter observeeren, als wij, zooals dat DE BARY ook deed, mycelium in een suikeroplossing kweeken. Dan ontstaan zijtakken, die aanzwellen en later in hun geheel afvallen. (fig. 12).

Ik ben er tot nu toe niet in geslaagd, om den samenhang van de „Sprossmycel"-achtige hyphen, die binnen het keverlichaam groeien en het condiëndragende myceel daarbuiten in een teekening vast te leggen. Toch kon ik dezen samenhang in mijn preparaten zien. Dat de bedoelde aangezwollen hyphen inderdaad een ontwikkelingsstadium van *Botrytis* voorstellen, kan ook bewezen worden door het feit, dat lijken van kevers, die niet aan schimmelinfectie stierven, niet zulke schimmeldraden bevatten.

De verschillen van *Botrytis Bassiana* en *Botrytis stephanoderis* zijn dus:

	BASSIANA	STEPHANODERIS
Conidiën:	vroeg stuksgewijze afvallend.	langer zitten blijvend, vallen in hoopjes af.
De conidiënhoofdjes bevatten:	16 tot 20 sporen.	1000 en meer sporen.
Kleur van oude cultures:	wit.	geelachtig.
Coremiën in aardappelcultures:	nog niet gezien.	na 3 of 4 weken regelmatig optredend.

Een verder punt van verschil is, dat het conidiëndragende myceel bij *Botrytis Bassiana* sterker gesepteerd is dan bij *Botrytis stephanoderis*. Aan dit kenmerk hecht ik echter geen groote waarde: het gaat hier om een fluctueerende eigenschap; naar gelang van cultuuromstandigheden kan ook *Botrytis stephanoderis* meer gesepteerde hyphen vormen.

Als wij cultures van de twee schimmels met elkaar vergelijken, dan valt ons op, dat *Botrytis stephanoderis* veel weelderiger groeit en veel dichtere, meer sporen bevattende hoopjes vormt, dan *Botrytis Bassiana*. Ik zou haast willen zeggen *B. stephanoderis* is een tropische variëteit van *B. Bassiana*. Het is interessant dat Petch, die de parasitische schimmels, die op bladluizen voorkomen, bestudeerd heeft, voor het geslacht *Microcera* tot een soortgelijke conclusie komt: „*Microcera coccophila* in Europe and the Northern United States usually does not exceed half a millimeter in height, but in the type of *Microcera pluriseptata* from Brazil, which is identical with *Microcera coccophila* the synnemata attain a height of 2.5 mm., and the same difference is seen between *Microcera auranticola* from Italy and Cey-

lon respectively. One gains the impression, that the temperate gatherings are depauparate examples of species which have wandered out of their latitude".

2). *Spicaria javanica* Bally.

Diagnose: Hyphen weinig gesepteerd, wit, conidiëndragers sterk vertakt, lengte zeer verschillend, breedte 1 tot 2 μ, aan het einde der draden talrijke kransvormig geplaatste vertakkingen. Deze zijtakken hebben aan hun einden drie of vier secundaire takjes, welke de conidiën in lange ketens afsnoeren, (zooals b. v. bij *Aspergillus* of *Penicillium*. Het einde van een hoofdtak vormt ook drie of vier conidiën-afsnoerende takjes. Conidiën langwerpig, 2 μ lang, 1 tot $1^1/_2$ μ breed. Kleur der conidiën eerst wit, later grijs paars. (Klinksiek atlas tusschen 503 A en 503 B).

In aardappelcultures vormen zich na afloop van drie à vier weken op hertenhorens gelijkende coremiën. Hun oppervlakte is gelad, de kleur beneden donkergeel, op de spits witachtig grijs. Hoogte 1 tot 3 cM

Gevonden op *Stephanoderes hampei* in Oost-Java.

De lange ketens van conidiën zijn in preparaten, die in alcohol of in water liggen, niet goed te herkennen, omdat de zachtste aanraking al een uiteenvallen der keten ten gevolge heeft. Daarom heb ik, om een habitusbeeld te geven, een conidiëndrager uit een onbedekt preparaat geteekend. (fig. 13). Daar zien wij duidelijk de lange ketenen, die zich bij elke luchtbeweging als takken van een boom bewegen en zoodoende voor een mechanisch afschudden der sporen en meteen voor een goede verspreiding der schimmel zorgen. Figuur 14 en 15 zijn naar alcoholpreparaten geteekend en geven een beter begrip van de wijze van vertakking. Figuur 16 geeft een coremium in natuurlijke grootte weder.

Vele mycologen zullen misschien verwonderd zijn, dat wij een *Hyphomyceet*, die coremiën vormt, onder de familie *Mucidineae*, waartoe het geslacht *Spicaria* behoort, rangschikken en niet onder de *Stilbaceae*. Lakon, die in het handboek van Escherich de insectendoodende schimmels beschreven heeft, staat op een ander standpunt; hij schrijft: „Gegenwärtig, so lange es an einer gründlichen Bearbeitung der *Isarien* fehlt, ist es aber jedenfalls vorteilhafter, an der alten Gattung *Isaria* festzuhalten, man muss sie nur als eine biologische Sammelgattung von insektentötenden zur Coremienbildung neigenden *Imperfecten* auffassen". Maar iets verder boven wordt toch toegegeven dat deze opvatting maar voorloopig met recht bestaat en dat er veel *Isarias* zijn, die feitelijk tot het geslacht *Spicaria* moeten gerekend worden: „Eine gründliche Neubearbeitung der *Isarien* auf Grund von Versuchen mit Reinculturen tut dringend not. Den Anfang hat schon Vuillemin gemacht. Nach diesem Autor ist z. B. *Isaria farinosa* unter die Gattung *Spicaria* Harz zu stellen. Es ist in der Tat unzweifelhaft, dass viele *Isarien* zu *Spicaria* oder

zu der nahe verwandten Gattung *Verticillium* gehören". De beweegreden, die mij er toe gebracht heeft, deze schimmel *Spicaria* en niet *Isaria* te noemen is de volgende: In de natuur heb ik de coremiën, die het karakteristieke kenmerk van het geslacht *Isaria* vormen, nooit gezien; ze traden alleen in aardappelcultures op. Daarentegen is het conidiëndragende myceel, dat voor de determinatie van *Spicaria* noodig is, altijd gemakkelijk te vinden.

Spicaria javanica is blijkbaar veel zeldzamer dan *Botrytis stephanoderis*. FRIEDERICHS heeft de eerstgenoemde schimmel op larven bij een keverkweekproef in het laboratorium en op kevers, die in zwarte bessen dood gegaan waren, op de onderneming Karang-Redjo gevonden. Of deze schimmel, ook op kevers in roode en groene bessen voorkomt, werd nog niet nagegaan. Onze cultures zijn van Karang-Redjo afkomstig. De virulentie is even groot als bij *Botrytis*. Geïnfecteerde larven en kevers worden met absolute zekerheid gedood. Door *Spicaria* gedoode kevers, op welke het conidiëndragende myceel naar buiten groeit, zijn van diegene, die door *Botrytis* gedood zijn, gemakkelijk te onderscheiden. Het myceel is minder dicht en na eenige weken wordt de paarsgrijze kleur duidelijk, die van het lichtgeel van *Botrytis* belangrijk verschilt.

3. Het optreden van de schimmel in de natuur.

In het volgende laten wij, in zooverre niet het tegenovergestelde vermeld wordt, *Spicaria* buiten beschouwing en beperken ons tot de veel belangrijkere *Botrytis*.

De door de schimmel gedoode kever zit gewoonlijk in zijn boorgat en steekt er dikwijls ietwat buiten. Steeds is de achterzijde van het lichaam naar buiten gericht, nooit de voorzijde. Men kan dus vermoeden, dat de zieke kever in zijn ademhalen belemmerd wordt en daarom het gedeelte van zijn lichaam, dat de ademopeningen bevat, in de vrije lucht laat steken, zonder daarbij zijn schuilhoek te willen verlaten [1]).

Maar het kan ook voorkomen, dat de doode kever zich dieper in het binnenste der bes bevindt. Schuilt hij in de nabijheid van het boorgat, dan vult het fructificeerende mycelium, dat uit de van schimmeldraden door en door doortrokken lichamen groeit, den boorgang aan en is van buiten alleen bij zeer nauwkeurige observatie te zien, tenzij

[1]). Men zou misschien kunnen denken, dat een verschimmelde kever, die alleen met zijn voorzijde in de bes steekt, gedurende het inboren gestorven is. Dit kan wel eens gebeuren, maar experimenten hebben toch aangetoond, dat de reeds geheel ingeboorde kever, als zijn einde nadert, weder te voorschijn komt en zoodoende de achterzijde van zijn lichaam naar buiten steekt en in deze positie blijft.

het tot aan de ingangspoort doordringt. Indien de verschimmelde kever zich in deze opening bevindt, is de schimmel zichtbaar als een wit propje, dat den boorgang afsluit. In zwarte bessen bevatten de resten der doorgevreten boonen dikwijls massa's van verschimmelde kevers (plaat IV beneden). Tijdens de epidemie te Karang-Redjo vond men verschimmelde kevers aan de basis der trossen, waar zij zich tusschen de jonge steeltjes oppervlakkig ingeboord hadden en zelfs vrij op de takken.

De bessen, welke beschimmelde kevers bevatten, zitten bij voorkeur op beschaduwde takken; dikwijls is het grootste deel of alle bessen van zulk een tak van schimmelproppen voorzien. Maar het kan in sommige gevallen ook gebeuren, dat op sterk door de zon beschenen takken veel schimmelproppen voorkomen. (Mededeeling No. 3 blz. 44). De gunstigste tijd voor de schimmel is in Oost-Java de regentijd; met het ophouden der regens wordt zij zeldzamer, maar, wanneer, zooals in dit jaar, de Oostmoesson vochtig is, is ook in dit jaargetijde de schimmel sterk vertegenwoordigd.

De schimmel is nu in het Malangsche en in het Blitarsche overal, waar koffie verbouwd wordt en waar de boeboek voorkomt, op deze te vinden. Ook bij zwakke aantasting komt zij nu in iedere aanplanting tenminste hier en daar voor. Zij treedt daarentegen alleen in die aanplantingen sterk op, welke tamelijk hevig of hevig door boeboek aangetast zijn. Ook dan kan het gebeuren, dat alleen hier en daar eens een verschimmelde kever te vinden is. Maar over het algemeen neemt met de hevigheid van de boeboekaantasting ook de schimmelaantasting toe.

De epidemie, welke in mededeeling No. 1 beschreven werd, begon op de *Kawisarihybriden*, zoowel te Karang-Redjo, als ook op een buuronderneming. Pas later breidde zij zich over de in *Robusta*bessen ingeboorde kevers met dezelfde hevigheid uit. Ook op andere plaatsen wordt volgens berichten en eigen waarnemingen de boeboekkever op de *Kawisarihybride* in bijzonder sterke mate door de schimmel aangetast. Zoekt men naar een verklaring voor dit verschijnsel, dan vergist men zich wellicht niet met de volgende veronderstelling: De groote discus der *Kawisari*bessen wordt zelden slechts door een kever, meestal door meerdere aangeboord. Ook bij *Robusta* komt dit voor, toch is gemiddeld het aantal kevers, welke één hybridenbes aanboort grooter dan dât, welk één *Robustabes* aanboort. Als een kever in de *Kawisaribes* door de schimmel gedood is en als dan de schimmel reeds fructificeert, dan zullen verdere kevers, die zich in dezelfde bes boren, in de meeste gevallen daarbij ook geïnfecteerd worden, aangezien zij, alvorens te boren, op de discus rondloopen, om naar een

geschikte boorplaats te zoeken. De kevers komen dus op de hybridenbes meer in aanraking met elkaar en er bestaat grootere kans van wederzijdsche infectie dan bij *Robusta*. Maar er komt nog iets anders bij. De harde hoornschil der hybridenbes belemmert de kevers, snel de boon binnen te dringen; zij blijven zelfs in de rijpe bes lang in het vruchtvleesch steken en zijn daar altijd aan aantasting blootgesteld, terwijl zij binnen de boon eenigszins beschut zijn tegen aantasting.

Onze schimmel komt ook op andere insecten voor. Te Karang-Redjo werden hier en daar verschimmelde rupsen en kevers, tot andere soorten behoorend, op de takken gevonden; verder werd in een hoop van zwarte bessen een door *Botrytis* aangetaste keverlarve gezien.

Er werden nooit *natuurlijke* epidemieën geobserveerd, die voldoende intensief waren om den kever plaatselijk bijna uit te roeien. De epidemie van Karang-Redjo is tenminste in zooverre niet natuurlijk, dat alle broedplaatsen uit den weg geruimd waren. Op de in Mededeeling No. 1 genoemde onderneming 5 trad in 1921/1922 wellicht een sterke natuurlijke epidemie op, toch kon deze niet beletten, dat de kevers zich verder in zoo sterke mate vermeerderden, dat ook dit jaar (1922) de onderneming weder sterk aangetast was. Ook in West-Java en in de Lampongs zijn, zooals BALLY in Mededeeling No. 3 uiteengezet heeft, nooit afdoende epidemieën opgetreden. Het vierde hoofdstuk van deze publicatie geeft een verklaring hiervan. Men mag dus van het natuurlijke optreden van de schimmel niet verwachten, dat zij den planter van deze plaag ooit ook maar voor eenigen tijd zal bevrijden. Wanneer wij toch iets belangrijkers hopen te bereiken, dan kan dit alleen een kunstmatige verhooging van haar uitwerking zijn. Daarover zal in de hoofdstukken 5 en 6 gesproken worden.

4. De uitwerking van de schimmel op de vermenigvuldiging van den boeboek.

Een rijpe bes, die een of meerdere schimmelproppen vertoont, kan nochtans levend broed bevatten zooals iedere andere bes, omdat dikwijls al voor het ontstaan der schimmelproppen een of zelfs meer andere kevers het binnenste der bes ongedeerd bereikt en daar broed gelegd hebben, en ook omdat de kever in sommige gevallen al voor de infectie eieren gelegd kan hebben. Wij hebben niet geconstateerd, of een geïnfecteerde kever eieren leggen kan. Wel kan infectie ook na het inboren plaats hebben. Zoo komt het dat, wanneer men een

aantal roode bessen met schimmelproppen opent, altijd een meer of minder groot gedeelte levend broed bevat. Eenige cijfers kunnen dit toelichten.

I. 22 November 1921. Bessen, die alleen vooze boonen bevatten, worden niet medegeteld.

	Aantal bessen.	Levend broed bevattend.	Dood broed bevattend.
A. *Kawisarihybride*, rijpe roode bessen met schimmel.	50	17 = 34 %	3 = 6 %
B. *Kawisarihybride*, rijpe roode bessen zonder schimmel.	50	36 = 72 %	—

II. 12 Januari 1922. De bessen worden vóór het onderzoek op de onderneming gepulpt en de boonen als marktkoffie bereid, echter zonder toepassing van hooge temperatuur, zoodat het broed levend blijft.

	Aantal bessen	Aantal boonen	Voos	Niet voos	Daarvan aangeboord	Niet aangeboord	Opmerkingen
A. *Hybride* met schimmel	100	161	14	147	36	111	Nergens broed = 0 %. Boonen zeer weinig aangevreten.
	100	155	22	133	51	82	
	100	158	16	142	41	101	
Totaal	300	474	52	422	128 = 30 %	294	
B. *Hybride*, zonder schimmel.	100	188	35	153	79 = 51,6 %	74	Met broed, daarom in sterke mate aangevreten: 37 boonen = 28 %. Ook het overige aangeboorde product had zwaar geleden.
C. *Excelsa*, met schimmel.	100	185	—	185	52	133	Alleen 4 boonen met broed dus 1,3 %. De aangevreten boonen zijn meestal gedeeltelijk donkergekleurd, maar over 't algemeen nog vrij goed; velen zijn haast onmerkbaar beschadigd.
	100	178	1	177	57	120	
	100	185	4	181	59	122	
	100	172	3	169	53	116	
	100	171	—	171	80	91	
Totaal	500	891	8	883	301 = 34 %	582	

	Aantal bessen	Aantal boonen	Voos	Niet voos	Daarvan aangeboord	Niet aangeboord	Opmerkingen
D. Excelsa, zonder schimmel.	100	183	1	182	95 = 52 %	87	Met broed, daarom sterk aangevreten: 26 boonen = 27 %. De overige aangeboorde boonen waren gedeeltelijk donker gekleurd, maar toch meestal een vrij goed product.

III. 5 Juli 1922. *Robusta.* Rijpe roode bessen, afkomstig van boomen uit onzen proeftuin. Deze boomen werden kunstmatig bevolkt met geïnfecteerde, maar levende kevers. De bessen werden opengesneden en de boonen dadelijk onderzocht.

	Aantal bessen	Aantal boonen	Voos	Niet voos	Intact	Min of meer aangeboord maar zonder broed	Met levend broed	Geheel leeg gevreten, waren dus vroeger van broed voorzien	Met afgestorven broed	Totaal met broed	Totaal met levend broed	Beschadigd met of zonder broed
A. Met schimmel	50	99	1	98	24 = 24,4 %	35 = 35,7 %	18 = 18,4 %	5 = 5 %	17 = 17,4 %	40 = 40 %	23 = 23 %	75 = 76,5 %
B. Zonder schimmel	50	93	2	91	47 = 51,6 %	— = 0 %	54 = 59 %	— = 0 %	— = 0 %	54 = 59 %	54 = 59 %	54 = 59 %

IV. 10 Juli 1922. *Robusta.* Rijpe roode bessen, afkomstig van boomen uit onzen proeftuin. Deze boomen werden kunstmatig bevolkt met geïnfecteerde, maar levende kevers. De bessen werden opengesneden en de boonen dadelijk onderzocht.

	Aantal bessen	Aantal boonen	Voos	Niet voos	Intact	Min of meer aangeboord maar zonder broed	Met levend broed	Geheel leeg gevreten, waren dus vroeger van broed voorzien	Met afgestorven broed	Totaal met broed	Totaal met levend broed	Beschadigd met of zonder broed
A. Met schimmel	50	97	0	97	26 = 26,8 %	34 = 35 %	18 = 18,5 %	3 = 3 %	16 = 16,4 %	37 = 38 %	21 = 21,4 %	71 = 72,4 %
B. Zonder schimmel	50	99	0	99	39 = 40 %	20 = 20,6 %	32 = 32,3 %	7 = 7 %	1 = 1 %	40 = 40,4 %	39 = 39,4 %	60 = 61,8 %

V. *Robusta*. De rijpe roode bessen werden opengesneden en de boonen dadelijk onderzocht.

	Aantal bessen	Aantal boonen	Voos	Niet voos	Intact	Min of meer aangeboord, maar zonder broed	Met levend broed	Geheel leeg gevreten, waren dus vroeger van broed voorzien	Met afgestorven broed	Totaal met broed	Totaal met levend broed	Beschadigd met of zonder broed
A. Met schimmel	50	79	10	69	23 =33,3 %	22 =31,9 %	17 =24,6 %	2 =2,9 %	5 =7 %	24 =34 %	19 =27,5 %	46 =66,7 %
B. Zonder schimmel	50	90	5	85	23 =27 %	9 =10 %	46 =54 %	7 =8,2 %	— =0 %	53 =62,3 %	53 =62,3 %	59 =72,9 %

VI. *Robusta*. De rijpe roode bessen werden opengesneden en de boonen dadelijk onderzocht.

	Aantal bessen	Aantal boonen	Voos	Niet voos	Intact	Min of meer aangeboord, maar zonder broed	Met levend broed	Geheel leeg gevreten, waren dus vroeger van broed voorzien	Met afgestorven broed	Totaal met broed	Totaal met levend broed	Beschadigd met of zonder broed
A. Met schimmel	50	93	13	80	25	26	21 =26,2 %	7 =8,8 %	1 =1,2 %	29 =36,2 %	28 =35 %	55 =68,8 %
B. Zonder schimmel	50	86	10	76	22	12	40 =52,6 %	2 =2,6 %	— =0 %	42 =55,2 %	42 =55,2 %	54 =71 %

De volgende samenvatting geeft aan, een hoe groot percentage boonen levend broed bevatten en waaruit dus later levende kevers kunnen wegvliegen:

I.	*Hybride*	zonder	schimmel	72 %	met	schimmel	34 %
II.	*Hybride*	,,	,,	28 ,,	,,	,,	0 ,,
	Excelsa	,,	,,	27 ,,	,,	,,	1,3 ,,
III.	*Robusta*	,,	,,	59 ,,	,,	,,	23 ,,
IV.	*Robusta*	,,	,,	39,4 ,,	,,	,,	21,4 ,,
V.	*Robusta*	,,	,,	62,3 ,,	,,	,,	27,5 ,,
VI.	*Robusta*	,,	,,	55,2 ,,	,,	,,	35 ,,

De opvallende cijfers van monster II buiten beschouwing latende, volgt uit de overige proeven, dat het percentage boonen, dat

levend broed bevat gemiddeld 57,6 bedraagt, wanneer de bessen geen schimmelprop hadden; daarentegen 28,2, wanneer in de bes een of meerdere verschimmelde kevers staken, of wel, *dat de schimmel het ontstaan van circa 50% broed in de van een prop voorziene bessen belet.*

Het zal later nog worden onderzocht, of in dit opzicht verschillen bestaan tusschen de diverse koffiesoorten.

Wij moeten verder probeeren, uit de boven vermelde cijfers op te maken, hoeveel broed binnen in de bes door de schimmel gedood wordt. Als wij de monsters I en III tot VI in aanmerking nemen, dan volgt daaruit, dat in I, V en VI in de bessen zonder schimmel altijd 0%, in die met schimmel 1 ¼ tot 7% van het broed afgestorven was; in III en IV daarentegen in het eerste geval 0 tot 1%, in het tweede geval 16,4 tot 17,4%. Deze laatste hooge cijfers worden hierdoor verklaard, dat de betreffende boomen door mij kunstmatig met gedeeltelijk geïnfecteerde kevers bevolkt werden. De kevers, die de bessen aanboorden, kwamen van een onder den boom geplaatste hoop zwarte bessen met broed, die in sterke mate door de schimmel geïnfecteerd was. De kevers hebben zonder twijfel dikwijls op hun lichamen schimmelkiemen meegesleept en binnen in de bes gebracht. Onder normale omstandigheden *is dus het percentage broed, dat binnen in de bes door de schimmel gedood wordt, gering.*

Deze cijfers geven meteen een antwoord op de vraag, hoe veel boonen in die bessen, welke schimmel bevatten, toch min of meer aangeboord en daardoor beschadigd of geheel opgevreten worden, hetzij dat zij broed bevatten of niet. Monster I komt hierbij niet in aanmerking, omdat wij over het aanboren geen gegevens hebben. Van de overige monsters wordt No. II afzonderlijk behandeld. Het heeft betrekking op Liberia-achtige soorten; de overige op Robusta.

± Aangeboorde boonen.

II.	*Hybride*	zonder schimmel:	51,6 %	met schimmel:	30 %
	Excelsa	,, ,,	52 ,,	,, ,,	34 ,,
	gemiddeld		51,8 %		32 %
III.	*Robusta*	,, ,,	59 ,,	,, ,,	76,5 ,,
IV.	*Robusta*	,, ,,	61,8 ,,	,, ,,	72,4 ,,
V.	*Robusta*	,, ,,	72,9 ,,	,, ,,	66,6 ,,
VI.	*Robusta*	,, ,,	71 ,,	,, ,,	68,7 ,,
	gemiddeld		66,2 %		71 %

Hieruit volgt dus, wat hybriden en excelsa betreft, dat het percentage boonen, dat bij aanwezigheid van de schimmel beschadigd werd 20 kleiner was dan bij het ontbreken van de schimmel. Bij robusta vinden wij daarentegen met schimmel nog ietwat méér beschadigde boonen of als wij dit surplus aan een toeval toeschrijven evenveel. In dit opzicht blijft dus de schimmel bij *Robusta* geheel in gebreke; toch mag men niet vergeten, dat het product met schimmel iets meer zal wegen dan zonder schimmel, omdat in het eerste geval minder boonen geheel vernield zijn.

Als wij nu de questie nagaan, in hoe verre aan de vermeerdering van den kever door de schimmel paal en perk kan worden gesteld, dan moeten wij eerst onderzoeken hoeveel van die kevers, welke uit schimmelbessen kruipen, zich bij het verlaten van de bes infecteeren en hoeveel dat niet doen. Eenige proeven hebben op deze vraag betrekking. Wij stellen het volgende voorop: Het bleek, dat de jonge kevers de bes, waarin zij zich ontwikkeld hebben, door de aanwezige boorgaten verlaten en dus geen nieuwe gaten van binnen naar buiten boren. Aldus zijn zij aan besmetting blootgesteld. De uitgangsopeningen bevatten weliswaar meestal niet meer de schimmelprop, die door het naar buiten gesloten boorsel opzij geschoven of afgestooten wordt, maar er blijven daar toch nog schimmelsporen kleven.

P R O E F: Een hoeveelheid rijpe of bijna rijpe bessen met schimmelproppen werden in een glas op een laag aarde uitgespreid. In deze aarde werd een opstaande tak met niet aangeboorde bessen gestoken. Het geheel werd in een gazen zak gesloten. Bij het nazien werden de bessen van den tak, welke intusschen aangeboord waren, afgeplukt en gedurende 4 dagen in een ander glas bewaard, dan opengesneden en daarna werd geconstateerd of de kever in deze bessen nog levend was of niet.

Begin: 5 Mei	Verschimmelde kevers:	Levende kevers:
11/15 Mei	2 (los op de aarde)	1
	2	
13/17 „	1	2
16/20 „	16	4
19/26 „	2 (los op de aarde)	
	10	
26/30 „	2 (los op de aarde)	
	5	23
30 Mei/1 Juni	6	3
1/6 „	3	10
6/10 „	3	3
	52	46

Verdere proeven werden op de volgende manier genomen:

In een aanplanting werden van een tak (het gaat om een *Kawisari-hybride*), alle bessen verwijderd, uitgezonderd eenige, die van schimmelproppen voorzien waren. Dan werd de tak in een zak van fijn gaas ingesloten; eenige rijpe, niet aangeboorde bessen werden er bijgevoegd en de zak aan de beide uiteinden toegebonden. Deze proef bleef helaas door de te groote belangstelling, die de Javanen voor de gazen zakjes toonden, zonder resultaat. Wij kunnen, omdat dit gedeelte van ons onderzoek voorloopig afgesloten wordt, deze proeven niet herhalen. Alleen afgaande op de boven genoemde proef, kunnen wij dus constateeren, dat even veel kevers gezond als geïnfecteerd de bes verlaten. Daarbij dient nog in aanmerking genomen te worden, dat de omstandigheden in het laboratorium voor de infectie zonder twijfel gunstiger zijn dan in de vrije natuur.

Wij kunnen nu de vraag beantwoorden, in hoe verre de vermeerdering van den boeboek door de schimmel beperkt wordt. Wij moeten ons hierbij tot *Robusta*-aanplantingen beperken, omdat wij voor de andere soorten niet over voldoende cijfermateriaal beschikken. Wij hebben gezien, dat approximatief in schimmelbessen ongeveer de helft minder broed voortgebracht wordt en dat wederom de helft van het daar ontstane broed door de schimmel bij het uitkruipen geïnfecteerd wordt en dood gaat. Zoo zou het misschien kunnen lijken alsof de vermeerdering in schimmelbessen tot $\frac{1}{4}$ gereduceerd was. Daarbij vergeet men echter, dat de uitkruipende geïnfecteerde kevers wederom voor een gedeelte, misschien voor de helft, broed voortbrengen en dat hiervan wederom de helft levend blijft. Dit kwart moet nog bij bovengenoemd getal gevoegd worden.

Gesteld: het aantal nakomelingen, dat bij afwezigheid van de schimmel zou ontstaan = x

het aantal der bij aanwezigheid der schimmel ontstane nakomelingen = y

het percentage schimmelbessen = a.

is de formule voor de vermeerdering:

$$y = x - \frac{x.a}{100} + \frac{x.a}{100.4} + \frac{x.a}{100.4.4}$$

Gesteld: x = 1000000. a = 30, krijgen wij

y = 700000 + 75000 + 18750 = 793750

Gesteld: x = 1000000. a = 50, krijgen wij

y = 500000 + 125000 + 31250 = 656250

Gesteld: x = 1000000. a = 100, krijgen wij
y = 0 + 250000 + 62500 = 312500.

Dus, *zelfs in het gunstigste geval bij 100% mortaliteit door de schimmel, ontstaat nog meer dan $^3/_{10}$ van het normale aantal der nakomelingen uit de telkens broedhoudende bessen.*

Daarmede is echter de werking van de schimmel op de vermenigvuldiging van de kevers niet in totaal uitgedrukt. Want niet alle door de schimmel aangetaste kevers zitten in rijpe of rijpende bessen, maar veel van hen gaan in groene, onrijpe bessen door de schimmel te gronde, waarin ze niet kunnen broeden. Hoe groot het percentage der onder zulke omstandigheden aan de schimmel ten offer gevallen kevers is, hebben wij niet kunnen vaststellen. Hierdoor komt dus een onbekende factor in het spel. Maar alle tot nu toe opgedane ervaringen weerspreken, dat deze factor van groote beteekenis is. Geen enkel voorbeeld is bekend, dat de schimmel de boeboekaantasting binnen dragelijke grenzen teruggebracht heeft, als de kevers zich ongestoord konden voortplanten.

Wel is ons een geval bekend geworden, waarbij niettegenstaande ongestoorde voorplanting van den kever, de schimmel de boeboekaantasting beslist merkbaar heeft beïnvloed, maar wij zullen zien, dat de uitwerking op den oogst absoluut onbevredigend was.

De in Mededeeling No. I genoemde aanplant V (zie pag. 16 en pag. 20) was reeds in 1921 zeer sterk aangetast, de oogst bevatte 35% inferieur. Gerampast werd er niet, ook niet zorgvuldig gelelest, en de kevers hadden daardoor gelegenheid, de jonge bessen van den nieuwen oogst op groote schaal te verwoesten. Tegelijkertijd trad de schimmel sterk op. In Januari 1922 werd eene schimmelaantasting van gemiddeld 25% over den geheelen aanplant geconstateerd, in het Zuiden minder dan 25%, in het Noorden daarentegen tot wel 85%, terwijl de aantasting in de in het midden gelegen afdeeling niet precies bekend is. De oogst 1922 vertoont nu over de diverse afdeelingen opvallende verschillen, welke overeenkomen met de schimmelaantasting:

Afdeeling	Ligging	Schimmelaantasting begin 1922	Percentage inferieur oogst 1922
I	Zuid	minder dan 25%	60 %
II	Midden	niet bekend	42 „
III	Noord	tot 85% toe	30 „

Deze getallen zijn beslist betrouwbaar, omdat de oogst der drie

afdeelingen op drie afzonderlijke etablissementen afgewerkt wordt. De inwerking van de schimmel op de kwaliteit van den oogst is onmiskenbaar. Wel is waar, slechts op de kwaliteit, want de kwantiteit is op alle drie afdeelingen ongeveer gelijk:

Zuid:	ong.	550	picol	
Midden:	,,	1000	,,	(deze afdeeling is ongeveer dubbel zoo groot als de beide andere)
Noord:	,,	550	,,	

Totaal 2100 picol over 900 bouws, tegen 4495 picols in 1921 over 1300 bouws (400 bouw koffie als catch crops zijn inmiddels gerooid).

De schimmel heeft dus niet kunnen verhinderen, dat de oogst een misoogst werd en wij kunnen uit dit voorbeeld zien, dat de natuurlijke uitwerking van een sterk optreden der schimmel in het gunstigste geval slechts een klein hulpmiddel is, wanneer de broedplaatsen niet verwijderd zijn. Hierbij is nog op te merken, dat de schimmel gedurende den geheelen drogen tijd (de droge moesson gaf dit jaar geen doorloopend drogen tijd) doorgewerkt heeft, hetgeen waarschijnlijk eene uitzondering voor Java is.

Hieruit kunnen voor de practijk drie conclusies getrokken worden, waarvan een al boven vermeld werd.

1. Wie Gods water over Gods land laat loopen en alles van een natuurlijke uitwerking der schimmel hoopt, zal zwaar teleurgesteld worden. De boeboek vindt ook in den regentijd rijkelijk genoeg zwarte bessen, om het deficit van de vermeerdering, dat door de schimmel veroorzaakt werd, te compenseeren.

2. Het is nutteloos om gedurende den oogsttijd een kunstmatige vermeerdering der schimmel te willen veroorzaken, omdat, wanneer in het gunstigste geval nog $\frac{3}{8}$ van de normale nakomelingen gezond wegvliegt, — of rekenen wij zelfs den onbekenden factor in aanmerking nemende $\frac{1}{4}$ — de uitwerking der schimmel nog altijd als weinig belangrijk mag beschouwd worden. Ook als men veronderstelt, dat de kosten van de kunstmatige verspreiding der sporen eenigszins gedekt worden door een geringere toename van aantasting, dan kan toch een zoo onvolkomen werkende maatregel niet aanbevolen worden. Het resultaat er van zou de moeite niet waard zijn; voor Java komt er bij, dat in een goed drogen Oostmoesson de schimmel waarschijnlijk maar zeer zwak zou optreden, ook als wij kunstmatig grootere hoeveelheden sporen verspreiden.

3. Bij den pluk moeten de rijpe bessen, die schimmelproppen

bevatten, mee geplukt worden, want in hen ontstaat een groote hoeveelheid gezond uitvliegende kevers.

5. Infectieproeven.

a. Laboratoriumproeven.

PROEF 1—4. Van een onderneming, waar nog geen schimmel gevonden werd, werden bessen meegenomen. Bij iedere proef werden deze bessen in een glazen schaaltje met een beetje vochtig filtreerpapier en een of twee gave koffieboonen gebracht. In proef 1 werden de bessen bestrooid met sporenpoeder van *Botrytis stephanoderis*, in proef 2 van *Spicaria javanica*, in proef 3 van *Metarrhizium anisopliae*, proef 4 werd ter contrôle onbehandeld gelaten. Het resultaat is in deze tabel te vinden.

Aantal doode kevers:

Datum:	Begin 6-2-'22.	7-2-'22	8-2-'22	10-2-'22	13-2-'22.
Proef 1. *Botrytis*		0	2	10	10
,, 2. *Spicaria*		0	2	9	10
,, 3. *Metarrhizium*		0	0	3	5
,, 4. Contrôle		0	0	0	0

PROEF 5. *Metarrhizium* werd op een andere manier toegepast: 25 kevers werden met sporenpoeder, die van een klappertorpop afkomstig was, omgeschud. In dit geval werd een mortaliteit van 100% bereikt. Bij de contrôleproef bleven alle kevers levend.

PROEF 6. *Botrytis*. Om na te gaan of alleen verzwakte kevers een slachtoffer van de schimmel worden, haalde men op 25 November uit zwarte bessen in het laboratorium gekweekte kevers, die door hun lichte kleur als jonge individuen te herkennen waren. Zij werden in een overvloedige massa sporen geschud, dan in een glas met 2 rijpe bessen gebracht. Op 29 November lagen 3 doode kevers buiten de bessen, 2 er van (mannetjes) waren al door mycelium omhuld. Den 5en December groeiden uit elk der twee bessen op meerdere plaatsen schimmelproppen en toen de bessen opengesneden werden, bleek, dat zij alleen verschimmelde kevers bevatten. Er was dus 100% geïnfecteerd. In de contraproef bleven alle kevers levend, behalve een, die echter niet door schimmel gedood was.

PROEF 7. *Spicaria*. Op 26 November werd een groote hoeveelheid sporenpoeder in een glas gebracht, daarbij 7 kevers en een

stuk vruchtvleesch bij wijze van voedsel en schuilplaats. Op 30 November waren alle kevers dood, en in een vochtige kamer gebracht, werden zij binnen korten tijd met sterke schimmelwoekeringen en conidiëndragers van *Spicaria* bedekt. In de contraproef bleven alle kevers levend.

P R O E F 8. *Spicaria.* Op 5 December werden 15 kevers in een overvloedige sporenmassa geschud en dan in een glas met twee roode bessen gebracht. Reeds den 8sten December, dus na drie dagen, waren niet minder dan 8 kevers dood in de karakteristieke positie met hun achterlijf uit het boorgat stekend. Op 10 December vielen al min of meer sterke schimmelwoekeringen te constateeren. Bij het opensnijden bleek, dat alle kevers door *Spicaria* verschimmeld waren.

P R O E F 9. *Botrytis.* Om de infectiekracht van bessen met schimmelproppen vast te stellen, werden op 19 September in een Petrischaal 20 tot 30 gekweekte kevers gebracht en er werden drie niet geheel rijpe van schimmelproeppen voorziene bessen bij gevoegd. De kevers boorden zich alle in. Een bes werd op 22 September opengesneden, er kwamen 5 levende kevers uit. Maar op 24 September lagen deze dood en door mycelium overwoekerd in het glas. De twee andere bessen, die op 24 September werden opengesneden, bevatten alleen doode kevers. In de vochtige kamer kwamen alleen bij een van de laatstgenoemde kevers *Botrytis* te voorschijn; uit de andere groeiden saprophytische schimmels.

Kevers, die schimmelbessen aanboren, infecteeren zich daarbij dus zeer gemakkelijk, maar dat behoeft niet altijd het geval te zijn, wat uit de volgende proef blijkt:

P R O E F 10. *Botrytis.* Den 27sten October werden vier zwarte bessen met schimmelproppen met 10 jonge gekweekte wijfjes en een jong mannetje in een glas gebracht. Op 31 October werd een doode kever in de karakteristieke positie in het boorgat gezien. Op 7 November werden de bessen geopend en er werden daarin 7 levende en twee verschimmelde kevers gevonden, het werd niet teruggezien.

Talrijke andere proeven gaven soortgelijke resultaten. Dergelijke proeven werden ook met larven genomen. Hierbij wordt de contrôle echter bemoeilijkt, doordat de larven, die buiten hun gewone voedingsplaats gebracht worden of die maar eenigszins aan de buitenlucht blootgesteld blijven, van zelf gauw sterven. Of de schimmelinfectie de oorzaak van hun dood is, valt pas te constateeren, als schimmeldraden met conidiën uit de doode lichamen beginnen te groeien. Dit was in onze proeven ook dikwijls het geval. Maar het kan ook gebeuren, dat de conidiëndragers van andere schimmelsoorten uit de doode kever groeien, b.v. van een Aspergillussoort, die vaak optreedt. Daardoor wordt de contrôle van dergelijke proeven moeilijk.

De door schimmelinfectie gedoode kevers kunnen dagen, zelfs weken lang blijven liggen, zonder dat het bekende witte myceliumpluimpje te voorschijn komt. Daartoe is een vochtige atmosfeer noodig; het is namelijk gebleken, dat wij meestal door doode kevers in een vochtige kamer te brengen, de witte conidiëndragers kunnen laten naar buiten groeien. Dit feit is voor de beoordeeling van de ondernemingsproeven van belang.

Als wij het al of niet slagen van grootere infectieproeven beoordeelen, dan kunnen wij als maatstaf nooit iets anders gebruiken dan het aantal kevers met witte myceliumpluimpjes. Wij constateeren b.v. 100 aangetaste bessen, waarvan 25 met schimmelproppen. Deze beoordeeling is altijd te ongunstig. (Ongunstig beoordeeld van uit het standpunt van den planter, die de kevers met schimmel wil bestrijden). Feitelijk zijn zeker meer kevers door de schimmel gedood, die zonder een naar buiten groeiend wit mycelium te vormen, weken lang kunnen blijven liggen. Deze doode kevers zijn alleen in zoo verre van belang, dat zij tot het percentage gedoode kevers bijdragen; voor de verspreiding der schimmel komen zij niet in aanmerking.

Wij kunnen trouwens dezelfde verschijnselen observeeren, als wij andere insecten met onze schimmel bepoederen. Wij zijn er b.v. in geslaagd, om de rupsen van *Cricula trifenestrata* te infecteeren, welke hier dikwijls sommige advocaatboomen geheel kaal vreten. Bij deze rupsen groeide ook het conidiëndragende mycelium pas na afloop van weken uit het gedoode lichaam.

Deze infectieproef slaagde ook op den boom. Door rupsen geattakeerde takken werden met een sporenemulsie besproeid. Ongeveer een week later hingen van deze takken hier en daar wit verschimmelde, doode rupsen af; de meeste rupsen had de eigenaar helaas kort te voren laten verzamelen, zoodat wij het percentage gedoode rupsen niet meer konden vaststellen.

Alvorens verder te gaan, trekken wij uit de boven vermelde proeven de conclusie, dat in het laboratorium, onder welke omstandigheden ook, elke *Stephanoderis hampei* van elken leeftijd, die met sporenpoeder van *Botrytis stephanoderis* in aanraking komt, na 3 of 4 dagen, misschien dikwijls ook al vroeger bezwijkt en dat hetzelfde resultaat met *Spicaria javanica* kan worden bereikt; daarentegen werkt *Metarrhizium anisopliae* niet zoo afdoende. Ook larven van den kever kunnen door *Botrytis* en door *Spicaria* met succes geïnfecteerd worden.

Overal, waar parasitische schimmels bij de bestrijding van insectenplagen gebruikt werden, deed men pogingen om de schimmel door middel van vrij gelaten insecten te doen verspreiden. Wij hebben dit ook geprobeerd. Er werd de volgende voorbereidende proef in het laboratorium genomen.

P R O E F 11. In een groote, van een wijde opening voorziene flesch werd een aantal zwarte bessen met broed gebracht. De flesch werd horizontaal met de opening tegen het licht gekeerd. In de hals van de flesch werden op voedingsbodems groeiende schimmels gebracht en wel zoodanig, dat het mycelium ringvormig de wand van de hals bedekte. De opening werd door een goed aansluitende reageerbuis afgesloten, waarin zich koffiebessen bevonden. Gedurende meerdere weken kwamen talrijke kevers uit de flesch in de buis en boorden zich daar in de bessen. De aangeboorde bessen werden van tijd tot tijd er uit genomen, gedurende 4 dagen bewaard en dan onderzocht. Er werd nooit een levende kever gevonden, zij waren steeds allen door schimmel bedekt. Op deze eenvoudige manier kunnen dus groote hoeveelheden kevers geïnfecteerd worden.

b. P r o e v e n i n d e n p r o e f t u i n.

P R O E F 1. In een kleinen koffietuin buiten Malang werd een tak van een koffieboom uitgezocht, op welken zich alleen bessen bevonden, die niet aangeboord waren. Deze bessen werden op de discus met sporenpoeder van *Botrytis* besmeerd, door een gazen zak omgeven, binnen in den zak werden vele kevers gebracht. Op een in de nabijheid staanden boom werd de contraproef zonder schimmel genomen.

Begin: 10 October. De met schimmel behandelde tak had toen 23 bessen. Op 18 October bevatten 3 ervan 3 van buiten zichtbaar verschimmelde kevers. Een verschimmelde kever bevond zich vrij op een tak. Op 26 October waren op 10 bessen schimmelproppen te herkennen; buitendien waren meerdere kevers los op den tak, verschimmeld. De andere takken hadden geen verschimmelde kevers.

P R O E F 2. Deze had ten doel, massa's verschimmelde kevers los te laten. De uitvoering was ietwat anders als in PROEF 11, blz. 126. De flesch, welke de van broed voorziene bessen bevatte, werd begin Januari rechtop onder een koffieboom in den proeftuin gezet. In de opening bevond zich een draadzeef, die een doorkruipen van kevers toeliet en die met schimmelsporen bedekt was.

De kevers, die er door kropen moesten met de sporen in aanraking komen. Een tweede draadzeef bedekt door haar overgebogen rand de opening van de flesch, het geheele toestel kwam onder een klein afdakje ter bescherming tegen regen te staan. Het bleek, dat bijna alle kevers direct naar boven vlogen en op denzelfden boom afkwamen, er vlogen maar zeer weinige op de in de nabijheid staande boomen. Toen de proef begon, was de boom, waaronder het glas stond, boeboekvrij; eenige weken later was hij daarentegen zwaar door de uit de flesch gevlogen kevers aangetast.

Op 18 Januari was nog weinig schimmel te zien; tegen einde Januari was daarentegen de boom als het ware besneeuwd door de talrijke schimmelproppen. Tellingen konden wegens ziekte van den proefnemer niet uitgevoerd worden. Toen wij drie weken later dezen boom weder nakeken, waren de schimmelproppen haast allen weer verdwenen. Van een uitbreiding der schimmel op andere boomen kon geen sprake zijn, omdat de aanplanting bijna boeboekvrij was.

In ieder geval was wederom in den proeftuin een flinke hoeveelheid kevers gemakkelijk door schimmel besmet.

P R O E F 3. Om te weten te komen, of ook de in de bes zittende kever nog een voorwerp van besmetting kan zijn, werd de volgende proef genomen. Wij stellen voorop, dat het eerst in onze bedoeling lag na te gaan, of in de vrije natuur een infectie van een groote menigte kevers met *Metarrhizium* mogelijk is. Hiervoor werden op 6 April 2 boomen met een emulsie van sporen dezer schimmel besproeid en werd tegelijkertijd onder iederen boom een blik met zwarte van broed voorziene bessen geplaatst, uit welk blik vele kevers weg vlogen en zich in de vroeger boeboekvrije bessen dezer boomen gingen inboren. De bessen waren meestal nog niet rijp.

Op 17 April was geen uitwerking van *Metarrhizium* te bespeuren. Een groot aantal bessen werd onderzocht. Alle bevatten levende kevers. Daarop werd een van deze boomen met sporen van *Botrytis* besproeid.

Op 10 Mei werden 115 bessen geplukt en onderzocht, 6 er van waren leeg, 16 bevatten levende kevers, 43 verschimmelde kevers (4 ervan waren van buiten niet zichtbaar) = 39% schimmel. Ten gevolge van de latere infectie bevatten 26 van de 43 bessen broed, ofschoon 12 van deze 26 nog grasgroen waren. Op den anderen boom waren maar 6 schimmelbessen te vinden.

Wij kunnen dus hier het belangrijke feit vermelden, dat bij de infectie van *Stephanoderes* door *Botrytis* praedispositie een geringe of geen rol speelt. Er wordt over het algemeen, wat de infectie door insectenschimmels betreft, een praedispositie van het betreffende insect verondersteld, d.w.z. een verzwakte toestand*). Deze toestand

*) Deze toestand treedt zelfs onder de ongunstige omstandigheden van gevangen houding dikwijls alleen bij een gedeelte der individuen op. Zoo kreeg b. v. SPEARE als het gemiddelde van verschillende infectieproeven genomen met *Metarrhizium* op *Rhabdocnemis obscura:*

bij sproeien van sporenmulsie	17%	gedoode kevers
bij directie inoculatie	10%	,, ,,
als de kevers sporen eten of over voedsel loopen, dat met sporen bepoederd is	20%	,, ,,
als gezonde insecten met zieke vermengd worden	10%	,, ,,

RUTGERS heeft sprinkhanen met *Metarrhiziumsporen* bestrooid. Hij kreeg eens 78% slaging; in andere gevallen daarentegen 0%.

treedt op, als wij insecten onder ongunstige levensvoorwaarden gevangen houden of als door massa-optreden van een schadelijk insect de levensomstandigheden ongunstiger worden. *Stephanoderes* kan in het laboratorium gemakkelijk onder condities gehouden worden, die aan de natuurlijke nabijkomen; maar hij wordt niettegenstaande dat steeds geïnfecteerd, wanneer hij met een flinke hoeveelheid sporen in aanraking komt. Het percentage geslaagde infecties in den proeftuin kon niet in cijfers worden uitgedrukt; wij moeten ermee volstaan te constateeren, dat de massa-infectie ook daar gemakkelijk slaagt.

Misschien is de sterke en algemeene uitwerking van *Botrytis Stephanoderis* hieraan toe te schrijven, dat de conidiën in hoopjes bij elkaar blijven, waarvan elk hoopje een 1000 sporen bevat. Deze hoopjes stuiven niet uit elkaar in enkele sporen, maar blijven langeren tijd als samenhangende massa bestaan. Zoodanig komt de kever meestal niet met enkele sporen in aanraking, maar met een vrij groote hoeveelheid. Hoeveel sporen noodig zijn om een kever te dooden, weten wij nog niet. Proeven, die daaromtrent genomen werden; leverden voorloopig niet te overwinnen moeilijkheden op. Wij konden echter dikwijls zien, dat kevers doodgingen, die eventjes op de vleugeldekken door een naald met sporen aangestipt werden.

Het is altijd en zoo ook in het geval van *Botrytis* en *Stephanoderes* moeilijk uit te maken of wij te doen hebben met een bijzonder werkzame schimmel of met een bijzonder gevoelig insect. Wij zullen deze vraag hier niet nader onderzoeken; dit zou ons te ver voeren. Wij zullen nu die proeven bespreken door middel van welke wij van de bovengenoemde gelukkige omstandigheden gezocht hebben profijt te trekken en zoodoende massa's van sporen in de aanplantingen te brengen, om aldus de schimmel te verspreiden.

c. Ondernemingsproeven.

De discus van de bes is zeker de plaats, waar de meeste kans bestaat, om den kever kunstmatig te infecteeren. In de meeste gevallen immers doet hij hier zijn pogingen om in te boren. Wij moeten dus probeeren op deze door de natuur gekozen plaats de schimmelsporen te brengen. Dit kan op verschillende manieren gebeuren. Wij kunnen sporenpoeder strooien, wij kunnen fructificeerende cultures met water schudden en de zoo verkregen emulsie van sporen er op gaan strijken of door middel van een spuit sproeien.

Verder kan zich de vraag voordoen, of alleen kevers, die bezig zijn te boren, door onze infectie worden gedood. Of zou het misschien gelukken op nog niet aangetaste bessen de schimmel te brengen met de bedoeling kevers, die later op deze bessen afkomen te raken?

Voor het nemen van dergelijke proeven komen natuurlijk alleen ondernemingen of afdeelingen van ondernemingen in aanmerking, die tot nu toe nog geen of maar heel weinig schimmel hebben. Hier alleen kan men constateeren of wij er in geslaagd zijn, de schimmel op plaatsen te brengen, waar zij vroeger niet voorkwam.

Mochten wij met onze pogingen succes hebben, dan moet verder worden uitgemaakt, of en in hoe verre zich de schimmel verspreid heeft van uit de plaatsen, waar wij onze proeven hebben genomen. Het antwoord op deze vraag is uiterst moeilijk; wij weten immers niets over de natuurlijke verspreiding van de schimmel en kunnen daaromtrent alleen hypothesen maken. Het is dus niet altijd zeker te zeggen, als een sterkere schimmelepidemie in onze proeftuinen optreedt, of deze aan onze infectie is toe te schrijven.

Wij zullen eerst de proeven mededeelen in de volgorde, waarin wij ze genomen hebben. De infectieproeven zijn allen door ons of in onze aanwezigheid genomen; voor de contrôle. waren wij op de hulp der Administrateurs aangewezen. Met veel ijver en toewijding hebben zich de Heeren Schorr, Van Heuven, Vlierboom, Lammers Lisnet, Balsem, Souman, de Quay, Zur Kleinsmiede, De Jonge en Utermark met deze taak belast; het zij ons daarom vergund, hun ook op deze plaats onzen dank te betuigen.

I. GAMBAR.

<table>
<tr><th rowspan="2">Alle proeven begonnen op 14 December 1921</th><th colspan="2">RESULTATEN</th></tr>
<tr><th>Op 5 Januari 1922</th><th>Op 20 April 1922</th></tr>
<tr><td>1. Alle aangetaste bessen van een boom afgehaald; de overgebleven met Botrytis-sporen bepoederd.</td><td>135 bessen aangestoken waarvan 9 met schimmel.</td><td rowspan="5">de onderneming werd weder bezocht. De schimmel had zich intusschen over de geheele onderneming verspreid, zonder dat uit te maken was, of de verspreiding uitging van de geïnfecteerde tuinen of boomen.</td></tr>
<tr><td>2. Dezelfde proef.</td><td>279 bessen aangestoken waarvan 2 met schimmel.</td></tr>
<tr><td>3. Dezelfde proef, maar zonder verwijdering van aangetaste bessen.</td><td>283 bessen aangestoken waarvan 65 met schimmel.</td></tr>
<tr><td>4. Zooals 3, maar in plaats van Botrytis, Spicaria.</td><td>155 bessen aangestoken waarvan 1 met schimmel.</td></tr>
<tr><td>5. Zooals 4.</td><td>177 bessen aangestoken waarvan 12 met schimmel.</td></tr>
</table>

Alle proeven begonnen op 14 December 1921	RESULTATEN Op 5 Januari 1922	Op 20 April 1922
6. Alle bessen van een boom besproeid met water, dat sporen van *Botrytis* bevat.	50 bessen aangestoken waarvan 12 met schimmel.	
7. Dezelfde proef als 6.	355 bessen aangestoken waarvan 25 met schimmel.	
8. Dezelfde proef als 6.	288 bessen aangestoken waarvan 30 met schimmel.	
9. Vier rijen in een tuin bepoederd met sporen van de twee schimmels. Totaal 50 boomen. Toen de proeven begonnen werden, was in de betreffende tuinen nog geen schimmel te vinden.	De uitwerking op de boomen is zeer verschill nd; sommigen hebben veel, anderen weinig schimmelproppen. De bessen op eenige takken werden geteld met de volgende resultaten : 89 aanget. bessen, 23 met schimmel. 48 „ „ , 2 met schimmel. 179 „ „ , 22 met schimmel Aangrenzende tuinen hebben nog geen schimmel.	

II. SATAK.

De onderneming was, toen de proeven begonnen werden, schimmelvrij; de boeboekaantasting was in de benedentuinen, waar de proeven genomen werden, zeer gering.

Begin der proeven: 28 December 1921	Resultaten op 31 Januari 1922
1. Op 4 boomen alle bessen met *Botrytis*sporen bepoederd	Geen schimmel
2. Op 4 boomen alle bessen met *Spicaria* sporen bepoederd	Geen schimmel
3. In een flesch werden roode, aangestoken bessen gebracht en geschud met sporenpoeder van *Botrytis*. De bedoeling was de kevers met *Botrytis* te infecteeren en door de geinfecteerde kevers de ziekte in de tuinen te doen verspreiden.	Op de in de nabijheid staande boomen werden geen bessen met schimmelproppen gevonden.

Fig. 1

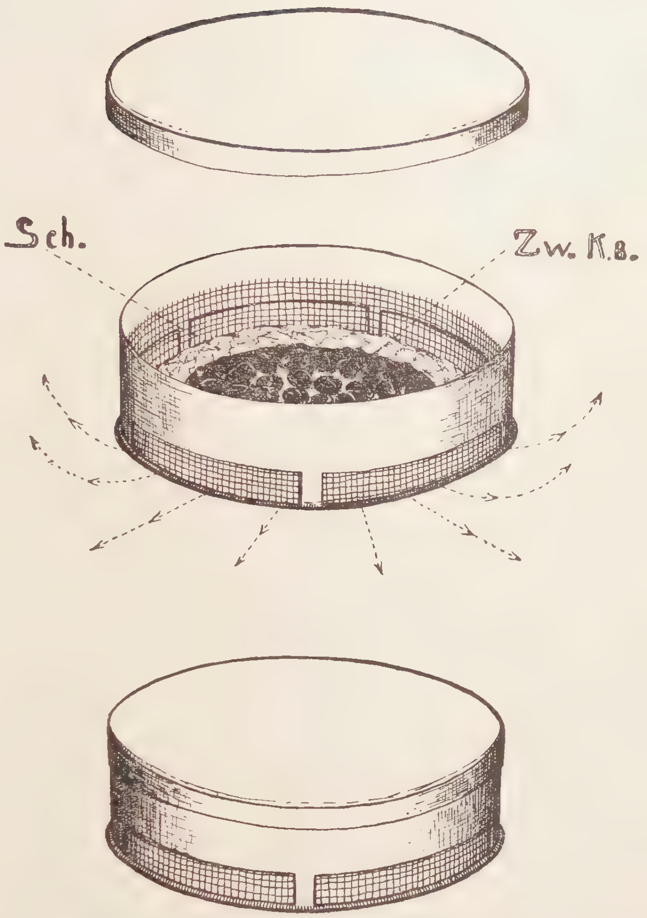


Fig. 2

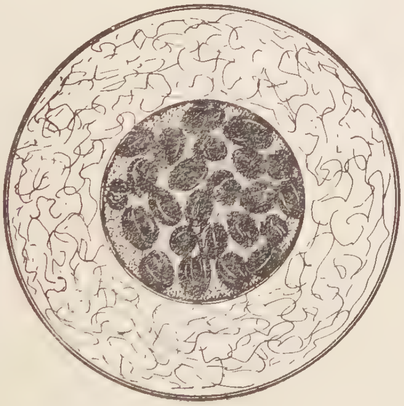


Fig. 1. Toestel voor de automatische infectie van kevers, om daarmede de verspreiding der schimmel in de aanplantingen te bevorderen. Boven: geopend, beneden: gesloten. Zw. k. b. = zwarte bessen, die kevers en broed bevatten, sch. = schimmelcultures.

Fig. 2. Het geopende toestel van boven gezien. Verklaring zie bldz. 132

III. GLOENSING.

Aantasting vrij sterk, de schimmel treedt op de onderneming sporadisch op.

Begin der proeven: 31 December 1922	Resultaten op 24 Januari 1922
1. Op twee boomen, die ter bescherming tegen den regen van een dak voorzien werden, bepoederde men alle bessen met sporen van *Botrytis*	70 aangestoken bessen, waarvan 16 met schimmelproppen.
2. Dezelfde proef als 1, de boomen waren echter niet van een dak voorzien.	30 aangestoken bessen, waarvan 14 met schimmelproppen.
3. Hier werd verder het op bldz. 126 proef 11 en op bldz. 126 proef 2 beschreven procédé om geïnfecteerde kevers te laten vliegen, gevolgd. Het procédé werd echter nog eens gewijzigd. De figuur laat de „Pandorabus", zooals de Administrateur dit kleine toestel genoemd heeft, zien. Een blikken bus van ca 10 cM. doorsnede heeft beneden in de zijwanden een ringvormige uitsnede, die door draadgaas afgesloten wordt. Op den bodem der bus is in het midden een ring gesoldeerd, waar binnen zich een kleine hoop zwarte, veel broed bevattende bessen bevinden. Rondom is schimmelmateriaal verspreid. Door deze schimmels moeten de kevers kruipen bij het verlaten der bus, waarbij zij zich infecteeren. De bus wordt in de aanplanting tusschen 4 boomen geplaatst op een kleine stellage ter beschutting tegen de vochtigheid van den grond. Van boven is het toestel door een afdak tegen regen beschermd.	De Administrateur schreef ons: „Wij constateeren, dat de boomen om de doos en de daarop volgende kring van boomen schimmelbessen vertoonde en dus de infectie hier zich verder verspreid had dan op de beide andere wijzen". Het is wel interessant, dat de kevers op deze wijze in massa automatisch geïnfecteerd kunnen worden. In hoe verre dit voor de praktijk van belang is, zie blz. 142.

IV. KALI TELLO.

Er was veel aantasting; de schimmel is op de onderneming nog zeer zeldzaam.

Begin der proeven: 4 Januari 1922	Resultaten op 7 Februari 1922
1. Op 4 boomen worden alle op de beneden takken zittende bessen met *Botrytissporen* bepoederd. De behandelde takken worden gemerkt.	Er worden 120 door schimmel gedoode kevers gevonden.
2. Dezelfde proef met sporen van *Spicaria.*	Er werden 2 door schimmel gedoode kevers gevonden.

V. PETOENG OMBOH.

De boeboekaantasting is zeer zwak; schimmels werden nog niet gevonden.

Begin der proeven: 9 Januari 1922	Resultaten op 7 Februari 1922
1. Op een boom worden alle bessen bepoederd met sporen van *Botrytis*; boom van een afdak voorzien.	Nihil.
2. Idem als 1, maar zonder afdak.	Nihil.
3. Idem als 1 en 2, maar sporen van *Spicaria*, met afdak.	Nihil.
4. Idem als 3, maar zonder afdak.	Nihil.

VI. SOEMBERWOELOE.

Vrij sterke boeboekaantasting; schimmel is nog niet aanwezig.

Begin der proeven: 13 Januari 1922	Resultaten op 7 Februari 1922
1. Op een boom werden alle aangetaste bessen met *Botrytissporen* bepoederd	126 aangestoken bessen, waarvan 18 met schimmelproppen.
2. Idem als 1, maar de boom van een afdak voorzien.	142 aangestoken bessen, waarvan 45 met schimmelproppen.
3. Idem als 1, maar in plaats van *Botrytis*, *Spicaria*.	117 aangestoken bessen, waarvan 49 met schimmelproppen.
4. Idem als drie, maar de boom van een afdak voorzien.	153 aangestoken bessen, waarvan 99 met schimmelproppen.

VII. GABROE.

De proeven werden in een tuin van *Uganda*-koffie met vrij zware aantasting genomen. Er was toen nog geen schimmel te vinden.

Begin der proeven: 17 Januari 1922	Rnsultaten op 15 Februari 1922
1. Op een boom worden alle aangetaste bessen met *Botrytissporen* bepoederd. De boom is van een afdak voorzien.	Aangestoken bessen 343, waarvan met schimmel 89.

Begin der proeven: 17 Januari 1922	Resultaten op 15 Februari 1922
2. Idem als 1, boom zonder afdak.	Aangestoken bessen 451, waarvan met schimmel 36.
3. Alle aangestoken bessen worden verwijderd, de overblijvende bepoederd met *Botrytissporen*.	Aangestoken bessen 7, waarvan met schimmel 2.
4 Idem als 3, maar boom zonder afdak.	Aangestoken bessen 19, waarvan met schimmel 6. De schimmel is nu ook in de nabijheid der behandelde boomen in tamelijk groote hoeveelheden te vinden.

Het bleek ons, dat wij hier een succes konden boeken. Op het oog waren de behandelde tuinen beter van schimmelproppen voorzien dan de onbehandelde. Na eenigen tijd is ons echter gebleken, dat deze eerste indruk foutief was. De schimmel begon zich pas later over de geheele onderneming te verspreiden, zonder dat de behandelde tuinen daarbij een duidelijken voorsprong lieten zien. Wij verwijzen naar de volgende tabel.

Tuin No. 48 (schimmel-infectieproef).

18 3 '22	geteld	10.000	bessen,	hiervan	aangetast	door	boeboek	6.030,	door	schimmel	88
8/4 '22	„	20.000	„	„	„	„	„	17.694	„	„	64

Tuinen in de nabijheid gelegen van den met schimmel geinfecteerden tuin No. 48.

25/3 '22	geteld	10.000	bessen,	hiervan	aangetast	door	boeboek	8.411,	door	schimmel	34
2/4 '22	„	10.000	„	„	„	„	„	8.400	„	„	28
7/4 '22	„	10 000	„	„	„	„	„	8.786	„	„	16

Tuinen verspreid over de onderneming.

21/3 '22	geteld	5000	bessen,	hiervan	aangetast	door	boeboek	1702,	door	schimmel	8
2/4 '22	„	9000	„	„	„	„	„	5697	„	„	27
7/4 '22	„	9000	„	„	„	„	„	5031	„	„	35

VIII. GOGONITI.

Aantasting vrij sterk; nog geen schimmel te vinden.

Begin der proeven: 18 Januari 1922	Resultaten op 13 Februari 1922
1. Op drie boomen werden alle bessen met sporen van *Botrytis* bepoederd.	22 bessen met schimmelproppen.
2. idem, als 1, maar *Spicaria* gebruikt.	Nihil.

IX. NGRANGKAH.

Aantasting zeer hevig; schimmel nog zeer zeldzaam.

Begin der proeven: 28 Januari 1922	Resultaten op 28 Februari 1922
1. Op 5 boomen worden alle aangestoken bessen besproeid met water, dat sporen van *Botrytis* bevat.	1442 bessen aangestoken, waarvan 131 met schimmelproppen.
2. Op 5 boomen werden alle aangestoken bessen bepoederd met sporen van *Botrytis*.	1364 bessen aangestoken, waarvan 142 met schimmelproppen.
3. Op 4 boomen worden alle aangestoken bessen besproeid met water, dat sporen van *Spicaria* bevat.	1269 bessen aangestoken, waarvan 26 met schimmelproppen.

X. SOEKORAME.

Begin der proeven: 25 Maart. De proeftuin heeft weinig schaduw. Vóór de behandeling der boomen werden 704 bessen geplukt en onderzocht, om nauwkeurig de boeboek- en schimmelaantasting na te gaan.

		Daarvan aangeboord	Aangeboord, maar zonder kevers	Aangeboord met levende kevers	Aangeboord met schimmel
Aantal onderzochte roode bessen	106	89	—	77	12
Aantal onderzochte groene en rijpende bessen.	598	369	65	207	97
	704	458	65	284	109

Bij bepaling van het schimmelpercentage werden in dit geval niet slechts de met schimmelpropjes voorziene bessen gerekend, maar ook die, welke kevers bevatten, die *binnen de bes* door de schimmel gedood waren. Deze bessen zijn van buiten niet als „schimmelbessen" te herkennen. Zoo werd het volgende percentage aantasting en schimmel vastgesteld:

Aantal onderzochte bessen:	704	
Daarvan aangeboord:	458	= 64,5%
Aangeboord, maar geen kevers meer bevattend:	65	
Dus aangeboord en (levende of doode) kevers bevattend:	393	= 59%
Daarvan) met levende kevers	284	
Daarvan) met door schimmel gedoode kevers:	109	

In 109 van de 393 bessen die kevers bevatten, zijn dus deze door de schimmel gedood, en de schimmelaantasting werd zoo op 27% vastgesteld.

Als wij zonder nader onderzoek der bessen maar eenvoudig de boorgaten met en zonder schimmelproppen geteld hadden, hadden wij gevonden dat 458 = 64% aangeboord waren en hiervan 73 met schimmelproppen voorzien waren, de schimmelaantasting zou dus op 16% berekend zijn, terwijl zij in waarheid veel hooger was. Maar deze preciese bepaling van de schimmelaantasting is, als reeds boven (bladz. 125) gezegd, bij ondernemingsproeven in het algemeen niet door te voeren; het is voldoende, door telling der schimmelproppen voor en na de proef de verhouding na te gaan.

PROEF 1. Van de 876 boomen, die in dezen tuin stonden, werden er 411 met een emulsie van Botrytissporen besproeid, waarbij kleine autospuiten gebruikt werden. Deze zijn echter in de praktijk niet te gebruiken, omdat zij na een paar dagen niet meer functioneeren. Een behandelde rij boomen werd altijd afgewisseld door een niet behandelde rij boomen. Op een vulling van de spuit gebruikte men 3 reageerbuisjes cultures of ½ tot een derde suikermonsterfleschjes cultuur. Het werk werd door vier vrouwen gedaan; iedere vrouw bespoot in een dag 70 tot 80 boomen. Er waren 18 vullingen noodig, dus over het

algemeen op 22 boomen een vulling. De vrouwen werkten den eersten dag maar korten tijd, dan twee dagen achter elkaar. Het dagloon was 25 cts, gezamenlijke kosten f 5.90 plus mandoer f 1.50, totaal dus f 7.40, of omgekeerd per boom 1.8 cts. Maar de vrouwen waren nog niet geroutineerd en een mandoer kan op meer dan 4 vrouwen toezicht houden. Verder werd elke behandelde boom door een lamtorotak gemerkt; daartoe moesten deze takken gekapt worden, werkzaamheden, die in de groote praktijk achterwege kunnen blijven. De Administrateur was van opinie, dat de kosten niet meer dan ½ cent per boom zullen bedragen. Gedurende de proef werd de tuin niet geplukt.

Resultaat op 4 April: 403 aangeboorde bessen werden van de behandelde boomrijen geplukt en onderzocht.

Aantal onderzochte bessen	Daarvan aangeboord	Aangeboord, maar zonder kevers	Aangeboord met levende kevers	Aangeboord met schimmel
403	403	51	181	171

Aangeboord met levende of doode kevers 352, daarvan met schimmel 171 = 50%.

465 aangeboorde bessen van de niet besproeide boomen geplukt en onderzocht.

Aantal onderzochte bessen	Daarvan aangeboord	Aangeboord, maar zonder kevers	Aangeboord met levende kevers	Aangeboord met schimmel
465	465	200	203	62

Aangeboord met levende of doode kevers 265, daarvan met schimmel 62 = 23%.

Ook hierbij werd het schimmelpercentage precies vastgesteld, doordat de bessen opengesneden werden en zoodoende vele door de schimmel gedoode kevers binnen in de bes gevonden werden. Als wij alleen de schimmelproppen geteld hadden en met het aantal der overige aangeboorde bessen hadden vergeleken, dan hadden wij het volgende resultaat gekregen:

op de besproeide boomen komen op de 403 aangeboorde bessen 135 met schimmel voor = 33.4%

op niet besproeide boomen komen op de 465 aangeboorde bessen 50 met schimmel voor = 10.7%

op alle boomen komen op de 868 aangeboorde bessen 185 met schimmel voor = 21.4°/₀.

Op de besproeide boomen had dus elke derde aangeboorde bes een schimmelprop, op de niet besproeide elke negende.

Resultaat op 11 April. Er werden dezen keer alleen de schimmelproppen geteld en met het totaalcijfer der aangeboorde bessen vergeleken.

	Niet aangeboord	Aangeboord	Daarvan met schimmel
Besproeid	102	202	50 = 24,7 %
Niet besproeid	97	175	41 = 23,4 %
Totaal	199	377	91 = 24 %

Dezen keer vielen de resultaten tegen. Het was gedurende ongeveer 1 week droog weer geweest en de zon had in den weinig beschaduwden tuin de schimmel grondig opgeruimd; men kon aan een sterken achteruitgang der schimmel gelooven, maar op beschaduwde takken kon men toch talrijke schimmelproppen zien, zooals de boven genoemde cijfers aantoonen. Op de behandelde boomen had de schimmelaantasting in de afgeloopen week afgenomen, op de niet behandelde had zij zich uitgebreid, over het geheel was zij gedurende de 7 dagen ongeveer constant gebleven.

De volgende staat geeft een samenvatting der resultaten:

25 Maart				15,9 % in doorsnee
4 April	10,7 % op de niet behandelde;	33,4 % op de behandelde;	21,4 % „	„
11 „	23,4 % „ „ „ „ ;	24,7 % „ „ „ ;	24 % „	„

De besproeiïng heeft dus alleen maar voorloopig een gunstigen invloed gehad, maar overigens verschillen de cijfers zoo weinig, dat wij tot de conclusie komen, dat op 11 April evenveel schimmel op de kevers groeide, als er, in aanmerking genomen de schaduw, de vochtigheid en de overige levensomstandigheden kon aanwezig zijn, onafhankelijk van de besproeiïng en dat deze dus op den duur van minimalen invloed was.

PROEF 2. Begin 10 Maart 1922.

De proef ging over een bouw. Beurtelings werd een rij behandeld en liet men de volgende onbehandeld. De behandeling bestond in het

aanbrengen van schimmelemulsie op de aangeboorde bessen door middel van een penseel. Op 379 aangeboorde bessen werden *vóór* de proef 87 schimmelproppen gevonden, dus 22%.

Resultaten op 4 April:

Aantal geplukte bessen	Aangeboord	Daarvan met schimmelproppen	
1034	388	41 = 10,5%	Behandeld
1020	371	54 = 15,4%	Onbehandeld

De schimmelaantasting was dus in de sedert de behandeling verstreken 4 weken achteruitgegaan, in de behandelde nog meer dan in de onbehandelde tuinen.

CONCLUSIES.

Wij zien, dat de resultaten zeer verschillend zijn. Waarmee deze groote wisselvalligheid samenhangt, is natuurlijk niet gemakkelijk uit te maken. Als factoren, die een verspreiding in de hand werken, komen in aanmerking:

1. Het weer. Een vochtige atmosfeer werkt den groei van de schimmel en vooral de vorming van de conidiën in de hand.

2. De toestand der schimmelcultures. Over het algemeen is het aan te bevelen, niet te jonge cultures te gebruiken, daar deze nog te weinig sporen gevormd hebben. Natuurlijk mogen de cultures ook niet te oud zijn; waar echter de uiterste grens van den leeftijd ligt, kunnen wij nog niet mededeelen. Cultures van twee maanden zijn nog vrij kiemkrachtig.

3. De hevigheid der boeboekaantasting. De twee ondernemingen, waar wij geen succes hadden, vertoonden zeer zwakke aantastingen. (Petoeng Omboh en Satak). De schimmel moet uit den aard der zaak haar natuurlijken voedingsbodem, de kever in voldoende hoeveelheid vinden, anders gaat zij ten onder.

Andere factoren zijn van minder groot belang. Uit onze opgaven kunnen wij opmaken, dat bescherming der op de bessen gebrachte sporen tegen regen door middel van een dak overbodig is.

Sproeien met in water gesuspendeerde sporen verdient de voorkeur boven bepoederen (gunstige resultaten van Gambar 6, 7 en 8, Ngrankah 1, en Soeko Rame). Vooral als er niet genoeg cultures ter beschikking staan, zouden wij sproeien prefereeren, daar wij zoodoende zuiniger te werk gaan.

Als eindresultaat onzer proeven mogen wij boeken, dat wij er wel in geslaagd zijn, de schimmel op ondernemingen te brengen, waar zij tot nu toe niet voorkwam. De resultaten van Kali-Tello, Soember Woeloe, Gabroe en Gloensing zijn in dit opzicht als bijzonder goed geslaagd te noemen.

Waar onze proeven geen succes hadden, daar is het negatieve resultaat aan de te kleine aantasting toe te schrijven. (Petoeng Omboh en Satak).

Dit resultaat is praktisch niet zeer belangrijk, omdat de schimmel zich ook zonder ons toetreden gaat uitbreiden, misschien iets minder spoedig dan met onze hulp. Zouden er nu nog ondernemingen zijn, waar tot nu toe geen schimmel te vinden was, dan zijn wij gaarne bereid, zulke met cultures te voorzien. Zooveel staat vast, dat met onze manier van werken (verspreiden van schimmels uitgaande van cultures) meer te bereiken is dan met het overbrengen van beschimmelde kevers van uit ondernemingen, waar de schimmel voorkomt. Wij verspreiden toch immers van cultures uitgaande een oneindig veel grootere hoeveelheid sporen in de aanplantingen dan op de boven bedoelde manier.

In onze hoop, dat door ons toedoen zich de schimmel van uit de plaatsen van infectie over de belendende tuinen en van daaruit over de geheele onderneming zou verspreiden, werden wij teleurgesteld. De resultaten van Gabroe zijn in dit opzicht bijzonder belangrijk, omdat in het begin daar het bereikte er veel belovend uitzag. Later was dan geen verschil tusschen behandelde en onbehandelde tuinen te zien. Wij kunnen verder vermelden, dat de administrateur van Ngrankah, de heer DE JONGE, uit zich zelf met cultures, die wij hem geleverd hebben, een proef genomen heeft, om op een bouw bij een groot aantal boomen alle bessen met sporenoplossing te besproeien. De resultaten waren volgens hem miniem.

Daarom behoeven wij echter de hoop nog niet op te geven. Wij kunnen en moeten nog pogingen doen, om op het gunstige oogenblik, d.w.z. als na afloop van den oogst de regens beginnen in te vallen, oneindig veel grootere hoeveelheden schimmelsporen in de aanplantingen te verspreiden. Zoodoende kan men misschien bereiken, dat een belangrijk grooter percentage kevers door de schimmel kan worden gedood.

Maar wij moeten wel voor oogen houden, dat op dit oogenblik nog de kwestie van de uitroeiïng der Stephanoderes door de schimmel in het stadium der proefneming verkeert en dat alvorens wij er in slagen, om een veel grooter percentage kevers te dooden, van een bestrijdingsmiddel geen sprake kan zijn.

Daarom waarschuwen wij de planters al te veel van ons werk te verwachten en daardoor zich misschien te laten verleiden, de andere bestrijdingsmaatregelen, die deugdelijk gebleken zijn, zooals rampassen, lelessen, afzoeken, enz. niet meer toe te passen. Men mag niet vergeten, dat over de geheele wereld maar zeer weinig gevallen bekend zijn, waar een afdoende insectenbestrijding door middel van parasitische schimmels kon worden toegepast, ondanks vele ernstige pogingen. Als wij toch met proeven in deze richting doorgaan, dan doen wij dit alleen, omdat er de bovengenoemde gunstige omstandigheden zijn, die ons misschien toch nog kunnen helpen om een succes te bereiken.

Zulk een hulp mogen wij echter alleen verwachten, als wij de bestrijding door middel van de schimmel niet zonder meer toepassen, maar in verband brengen met de vroeger geadviseerde noodzakelijke bestrijdingsmaatregelen, speciaal met het rampassen.

Samenvatting.

1. Eene parasitische schimmel, welke de koffiebessenboeboek (*Stephanoderes hampeï = coffeae Haged*) doodt is reeds sinds eenige jaren bekend, maar hier voor het eerst beschreven als *Botrytis stephanoderis Bally n. sp.* Nog een tweede, meer zeldzame schimmel, die in zwart geworden bessen gevonden werd, is in staat, den genoemden kever te dooden, nl. *Spicaria javanica Bally n. sp.*

2. De in de natuur door de schimmel gedoode kever steekt meestentijds met een deel van zijn lichaam, en wel met het achterste gedeelte uit de door hem geboorde gang naar buiten, zoodat de opening hiervan door een schimmelprop afgesloten wordt. Deze schimmelproppen zijn bij voorkeur op beschaduwde takken te vinden. In den drogen tijd wordt de schimmel zeldzamer. Zij treedt nu naar het schijnt, overal op Java en Sumatra op, waar de koffiebessenboeboek voorkomt. Meermalen werd opgemerkt, dat de schimmel eerst op een speciale koffiesoort, nl. *Kawisari-hybride*, in sterkere mate optrad. Natuurlijke epidemieën van zulk een omvang, dat de kever daardoor plaatselijk uitgeroeid zoude worden, komen niet voor, omdat de vermeerdering van den kever de door de schimmel veroorzaakte vermindering in aantal steeds weder minstens compenseert. Gebruik van de schimmel als middel tot bestrijding van den kever heeft daarom, zoo ooit, slechts dan kans op resultaat in een tijd, dat geen rijpe bessen, welke de broedplaatsen van den kever vormen, zich nog aan de boomen bevinden of op den grond liggen.

3. Als wij onderzoeken:

a. 100 aangeboorde roode bessen zonder schimmelproppen, dan vinden wij een zeker aantal (n) met broed;

b. 100 aangeboorde roode bessen met schimmel, uit denzelfden tuin afkomstig, dan vinden wij daarin ongeveer 50 van het onder a genoemde aantal, dus $^{n}/_{2}$ met broed.

Dit beteekent een vermindering van het normale getal van nakomelingen van ongeveer 50 %, veroorzaakt door de schimmel.

De jonge kevers verlaten de bes, waarin zij zich ontwikkeld hebben, door het boorgat van de moederkever, en hierbij infecteeren zich ongeveer 50 % van hen met de daar teruggebleven schimmelsporen.

Bessen met schimmelproppen leveren dus niet het normale getal van nakomelingen op, maar toch nog ongeveer een kwart daarvan.

Dat het broed door de schimmel direct gedood wordt, gebeurt vrij zeldzaam.

4. De beide schimmels kunnen gemakkelijk op verschillende voedingsbodems, als: aardappelen, rijst, pisang-agar, enz. in reincultuur gekweekt worden. Infectieproeven in het Laboratorium, op verschillende wijze uitgevoerd, waarbij de kever met rijkelijke hoeveelheden sporen in aanraking komt, gelukken immer. Ook gelukte de infectie in den proeftuin gemakkelijk. Praedispositie schijnt dus hierbij een geringe of geen rol te spelen, d. w. z. het schijnt voor de infectie niet noodig te zijn, dat de kever zich in een verzwakten toestand bevindt.

5. Niet altijd komt fructificeerend mycelium uit de met schimmel bedekte kevers naar buiten; dikwijls gebeurt dit zelfs niet in de vochtige kamer of pas na langeren tijd.

6. Misschien is de sterke infecteerende kracht van de *Botrytis stephanoderis* aan het feit toe te schrijven, dat de afgevallen conidiën in hoopjes samengebald blijven, zoodat de kever niet met enkele sporen, maar met een groote hoeveelheid daarvan in aanraking pleegt te komen.

7. Infectieproeven in de koffie-aanplantingen werden gedeeltelijk op honderden boomen uitgevoerd. De sporen werden nat of droog met een penseel op aangeboorde en niet aangeboorde bessen gebracht of een suspensie van sporen daarop gespoten. In vele gevallen werd op deze wijze tamelijk sterke schimmelaantasting bereikt, maar nooit vond eene uitbreiding van de schimmel van zulke plekken uit plaats. Gaat het er slechts om, de schimmel op een plaats te brengen, waar zij nog niet voorkomt of op dat oogenblik niet voorkomt, dan wordt dit het zekerst door het loslaten van geïnfecteerde kevers bereikt. Eene inrichting voor automatische massa-infectie

van de losgelaten kevers is in deze publicatie beschreven en afgebeeld.

8. Proeven om de werking van de schimmel in den aanplant door versproeien van massa's sporen te verhoogen zullen op grootere schaal in het gunstige jaargetijde, d. i. in het begin van den regentijd, in die koffietuinen voortgezet worden, waar door het vernietigen van alle broedplaatsen den kever de gelegenheid tot vermenigvuldiging gedurende meerdere maanden ontnomen is.

9. *Botrytis stephanoderis* is pleophaag; in de natuur werden met schimmel voorziene kevers van andere soorten, larven daarvan en rupsen gevonden; in het Laboratorium en ook in de natuur gelukte de infectie van een bepaalde rupsensoort. (Cricula trifenestrata).

GECITEERDE LITERATUUR.

1. De Bary, A. Zur Kenntnis insektentötender Pilze. Botanische Zeitung XXV, 1867, p. 1.
2. Escherich, K. Die Forstinsekten Mitteleuropas. I. Bd. Berlin 1914.
3. Friederichs, K. Untersuchungen über Nashornkäfer als Schädlinge der Kokospalme. Beiheft IV zur Zeitschrift für angewandte Entomologie, 1919, p. 75.
4. Friederichs, K. De bestrijding van de Koffiebessenboeboek op de onderneming Karang Redjo. Mededeelingen van het Koffiebessenboeboek-Fonds, No. 1. 1922.
5. Klinksiek P. et Valette, Th. Code des couleurs à l'usage des naturalistes, artistes, commerçants et industriels. Paris. 1908.
6. Leefmans, S. Voorloopige mededeelingen omtrent Koffiebessenboeboek. Publicaties van het Nederlandsch-Indisch Landbouw-Syndicaat, XII jaargang, 1920, p. 645.
7. Petch, T. Fungi parasitic upon scale insects. Transactions of the British mycological society, Vol. VII, 1921, p. 18.
8. Rorer, J. B. The green muscardine of froghoppers. Proceedings of the Agricultural Society of Trinidad and Tobago. Vol. X, 1910, p. 467.
9. Rutgers, A. A. L. Infectieproeven met een schimmel, die patogeen is voor insecten. *Metarrhizium anisopliae* (*Metschn.*) *Sorokin*. Mededeelingen van het Instituut voor plantenziekten en cultures, No. 25, Batavia. 1916.
10. Speare, A. T. Fungi parasitic upon insects injurious to sugar cane. Experiment station of the Hawaian sugar planters association, no. 12, 1912.
11. Van der Weele, H. W. *Xyleborus coffeivorus nov. spec.* een nieuwe koffieparasiet. Teysmannia vol. XXI, 1910 p. 308.

VERKLARING DER PLATEN. I-III.

(De teekeningen zijn gemaakt met behulp van een Abbesche teekencamera. Vergrooting: Zeiss, Oc. 4, obj. F = 930 x).

BOTRYTIS STEPHANODERIS NOV. SPEC.

Plaat I. Fig. 1, 2 jonge conidiëndragers;
Fig. 3, 6 vorming der conidiën op tengere myceliumtakken.
Fig. 7 conidiën.
Plaat II. Fig. 8 ontkiemde conidiën.

BOTRYTIS BASSIANA BALS.

Fig. 9. Conidiëndrager.

BOTRYTIS STEPHANODERIS NOV. SPEC.

Fig. 10. Vertakte conidiëndrager met zeer dichte hoofdjes (ietwat geschematiseerd).
Fig. 11. Mycelium uit een doode kever.
Fig. 12. Mycelium in suikeroplossing met aangezwollen zijtakken.

SPICARIA JAVANICA NOV. SPEC.

Plaat III. Fig. 13. Conidiëndrager in luchtpreparaat (zwakke vergrooting).
Fig. 14. 15. Details van conidiënvorming.
Fig. 16. Coremium (natuurlijke grootte).

SUMMARY IN ENGLISH.

1. A parasitic fungus, which kills the coffee berry beetle (*Stephanoderes hampeï Ferr.=coffeae Haged.*) is known since some years. It is not possible at present, to make out, if the fungus has already been observed in Java, at the same time the beetle was introduced here.

2. We found two fungi, which are able to kill *Stephanoderes hampeï*. These fungi have not been described until now. We call them *Botrytis stephanoderis* nov. spec. and *Spicaria javanica* nov. spec.

The diagnoses are:

Botrytis stephanoderis nov. spec.

Sterile hyphae white, inside the body of the killed insect pluricelular, 4 μ. thick, on the outside much thinner (until 2 μ.).

Fertile hyphae on branchlets, arranged in a verticillate manner. Branchlets usually thickened. The conidia rise terminally or laterally on small sterigmata. Conidia globose, 2—3 diameter. The lateral branchlets are able to form secundary of tertiary branchlets. Finally big heads of conidia are formed (in one head until 1000 conidia).

In potato cultures 1 until 2 cm. heigh coremia are formed. These can be branched or simple.

Found as a parasit on *Stephanoderes hampeï* in Java and in Sumatra.

Spicaria javanica nov. spec.

Hyphae septate with few septa, fertile hyphae richly branched, 1 to 2 μ. bread. On the top numerous verticillate branchlets are formed. These primary branchlets form on there tip 3 to 4 secundary branchlets, on which rise the conidia in long chains. Conidia elliptical 2 × 1-1½ μ. first white, later grew-violet.

In potato cultures after 3 of 4 weeks hartshornlike coremia are formed. Coremia smooth, yellow at the basis, white grew at the tip, 1 to 3 cm. high.

Found on *Stephanoderes hampeï* in East Java.

3. *Spicaria javanica* is rather scarce, *Botrytis stephanoderis* has every where been found, where the coffee berry beetle appears.

4. The beetle, which has been killed by the fungus, puts the back part of his moulded body out of the bore hole, thus closing the opening by a mould bung. The mould bungs are found by preference on shadowded branches of the coffee tree. During the dry season the fungus becomes scarcer.

5. Natural epidemies, which are efficient enough to eradicate the beetle even locally, are not known, what must be ascribed to the

fact, that the decrease caused by the fungus is compensated by the rapid propagation of the beetle.

If we investigate:

a. 100 infected red berries without mould bungs, we find a certain number (n) containing brood,

b. 100 infected red berries with mould bungs, which originate from the same garden, then we find ± 50 from the number mentioned sub a), thus $^{n}/_{2}$ with brood;

This means a diminution of the normal number of offspring to 50%, which is caused by the fungus.

The young beetles leave the berries, where they have developped, through the bore hole, made by the mother beetle. In doing so 50% of them infect themselves with spores remained on this spot.

In this way berries with mould bungs do not furnish the normal number of offspring, but only about ¼ of it. Brood is not very often killed by the fungus.

6. The two fungi can easily be cultivated on solid and on liquid media, as f. i. potatoes, rice, agar with banana juice, a solution of pepton and glucose.

7. Infection experiments with spores originated from cultures gave a full success in the laboratory. It was possible to infect easily larva, young and old beetles and even other insects f. i. caterpillars of *Cricula trifenestrata*. Sometimes it can take a long time before the fertile hyphae grew out of the dead body of the insect.

8. Infection experiments in a experimental garden in Malang gave good results.

9. Experimenting in different ways, we succeeded in bringing the fungus on estates, where he has not been observed hitherto. (By dusting spores on the berries, by spraying a solution of spores and by infecting beetles and letting them fly in the fields). The fungus however did not spread from the places, where we brought him.

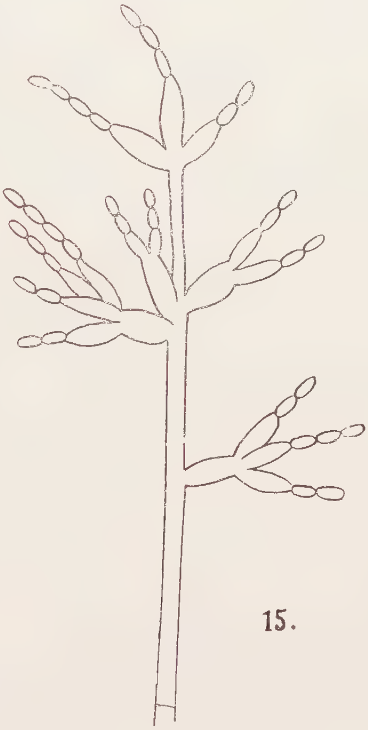
10. In the beginning of the wet season we intend to make further experiments by bringing more considerable quantities of the spores in the coffee fields. For this purpose we will choose the good moment, when after harvesting and removing all ripe coffee berries, there remain nearly no brood places on the estates.

Botrytis Stephanoderis Bally

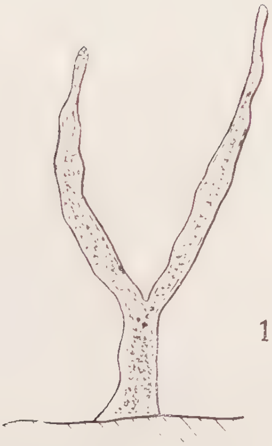
Fig. 8, 10, 11, 12 Botrytis Stephanoderis Bally
Fig. 9. Botrytis Bassiana Bals.

13.

14.



15.



16.

Spicaria javanica Bally

Boven: twee trossen van Hybridenkoffie met verschimmelde kevers
Beneden: opengesneden zwarte bessen met verschimmelde kevers

Reincultuur van Botrytis Stephanoderis